Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E.Buchner-Würzburg, F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C.v. Noorden-Frankfurt a. M., E. Salkowski - Berlin, F. Tangl - Budapest, A. von Wassermann-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

unter Mitwirkung von

II. Ascoll-Catania, L. Asher-Bern, J. Baug-Lund, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, P. Blumssthal-Berlin, A. Bonsuni-Rom, F. Botiazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe I. B., A. Burig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, B. Ffenner-New York, J. Forssman-Lund, B. Frânkel-Wien, E. Freund-Wien, E. Friedberger-Greifswald, E. Friedmann-Berlin, O. v. Forth-Wien, G. Galeotti-Neapel, F. Haber-Berlin, Dahlem, H. J. Hamburger-Groningen, A. Heffter-Berlin, V. Heurl-Paris, V. Henriques-Kopenhagen, W. Heubher-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, B. Kobert-Rostock, M. Kumagawa-Tokio, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstela-Berlin, P. A. Levene-New York, L. v. Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Melsenheimer-Berlin, L. Michaelis-Berlin, J. Morgenroth-Berlin, W. Norust-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Pauli-Wien, R. Pleiffer-Breslau, E. P. Fickwien, J. Pehl-Heselau, Ch. Forcher-Lyon, F. Rochmann-Breslau, F. Rona-Berlin, B. Salaskin-St. Petersburg, M. Sleder-St. Petersburg, M. Slegfried-Leipzig, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, M. Spiro-Straßburg, E. H. Starling-London, J. Slokkasa-Prag, W. Stramb-Freibrg i, B. A. Stutzer-Königsberg i, Pr., II. v. Tappeiner-München, H. Thoms-Berlin, A. J. J. Vandevelde-Gent, O. Warburg-Berlin, W. Wiechowkki-Prag, A. Wohl-Danrig, J. Wohigemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Dreiundsiebzigster Band.





Verlag von Julius Springer. 1916.



QP501 .B58 v.73

CHEMISTRY LIBRARY

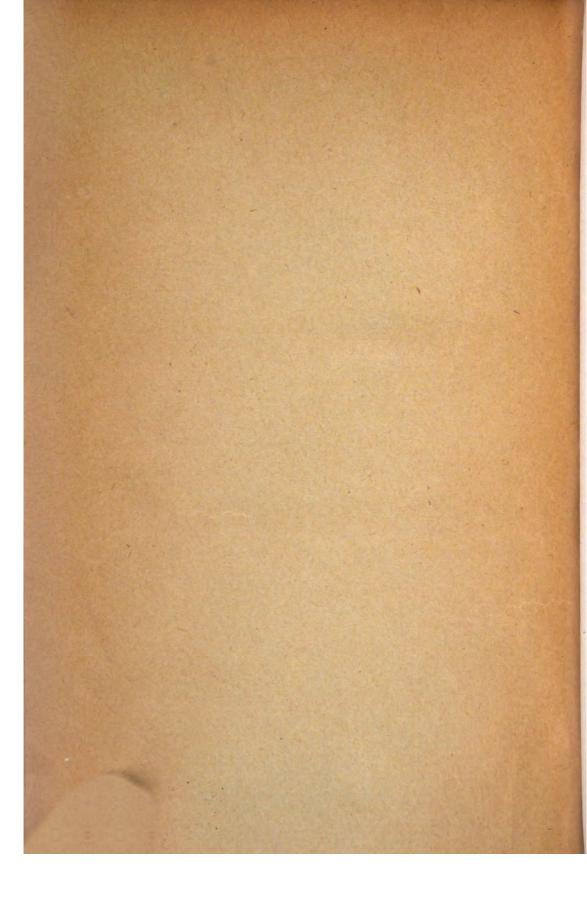






CHEMISTRY LIBRARY

JOURNAL Does Not Circulate



Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E.Buchner-Würzburg, F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C.v. Noorden-Frankfurt a. M., E. Salkowski - Berlin, F. Tangl - Budapest, A. von Wassermann - Berlin, N. Zuntz - Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, J. Bang-Lund, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, P. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Fiexner-NewYork, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, E. Friedberger-Greifswald, E. Priedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, G. Galeotti-Neapel, F. Haber-Berlin-Dahlem, H. J. Hamburger-Groningen, A. Hefiter-Berlin, V. Henri-Paris, V. Henriques-Kopenhagen, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, R. Kebert-Rostock, M. Kumagawa-Tokio, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, R. A. Levene-New York, L. v. Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Melsenhelmer-Berlin, L. Michaells-Berlin, J. Morgenroth-Berlin, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Paull-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, P. Rochmann-Breslau, P. Rona-Berlin, S. Salaskin-St. Petersburg, N. Sleber-St. Petersburg, M. Slegiried-Leipzig, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Straßburg, E. H. Starling-London, J. Stoklass-Prag, W. Straub-Freiburg i. B., A. Stutzer-Königsberg i. Pr., H. v. Tappeiner-München, H. Thoms-Berlin, A. J. J. Vandevelde-Gent, O. Warburg-Berlin, W. Wiechowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin,

Redigiert von C. Neuberg-Berlin.

Dreiundsiebzigster Band.



Berlin. Verlag von Julius Springer. 1916.



351250

QP501 .B58 .73

YERREVEL AKAKUM YEARMI

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Clone

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Schapire, P. Über die Wirkung der Digitalis allein und in Kombi-	
nation mit Adrenalin und Schilddrüse auf das Herz von Rana	
esculenta	1
Lenk, Emil. Die Bedeutung der Elektrolyte für Quellungsprozesse. A.	15
Lenk, BmH. Die Bedeutung der Elektrolyte für Quellungsprozesse. B.	58
Steklass, Julius. Ist das Kaliumion an der Eiweißsynthese in der	
Pflanzenzelle beteiligt?	107
Heide, R. von der, M. Stenber und N. Zuntz. Untersuchungen über den	
Nährwert des Strohstoffs	161
Bodnár, J. Über die Zymase und Carboxylase der Kartoffel und	
Zuckerrübe	193
Volgt, J. Die Verteilung und das Schicksal des kolloiden Silbers	
im Säugetierkörper. IV	211
Meißner, Richard. Pharmakologische Versuche am überlebenden Darm	236
Steklasa, Julius. Über die Abhängigkeit der Resorption des Kalium-	
ions von der Gegenwart des Natriumions im Organismus der	
Zuckerrübe	260
van der Laan, F. H. Das osmotische Gleichgewicht zwischen Blut und	
Milch. II	313
Andersen, A. C. und Regitze Reed-Müller. Zur Kenntnis der Eiweiß-	
körner III Zur Bestimmung der Mongemingdigerhonsäuren	32 6

	Selte
Bau, Arminius. Einige Bemerkungen über die Hefen-Carboxylase mit	
besonderer Berücksichtigung ihrer Haltbarkeit in Trockenhefen	
im Vergleiche zu anderen Hefenenzymen	34 0
Hekma, E. Über das Fibrin und seine Beziehung zu einigen Pro-	
blemen der Biologie und Kolloidchemie. (Mit besonderer Be-	
rücksichtigung der Blutgerinnungsfrage.) VI. Über den physi-	
kalischen Fibrinausscheidungs- bzw. Gelbildungsmodus in natür-	
lichen und künstlichen Gerinnungsflüssigkeiten	3 70
Hekma, H. Über das Fibrin und seine Beziehung zu einigen Pro-	
blemen der Biologie und Kolloidchemie. (Mit besonderer Be-	
rücksichtigung der Blutgerinnungsfrage.) VII. Über die Ähnlich-	
keit des Fibrinausscheidungsvorgangs mit einem Krystallisations-	
prozeß einerseits und einem kolloidalen Ausfällungsprozeß anderer-	
seits, sowie über die Natur der Fibringerinnung überhaupt	428
Autorenverzeichnis	454

Über die Wirkung der Digitalis allein und in Kombination mit Adrenalin und Schilddrüse auf das Herz von Rana esculenta.

Von

F. Schapiro.

(Aus dem pharmakologischen und medizinisch-chemischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 27. September 1915.)

Mit 8 Figuren im Text und 1 Tafel.

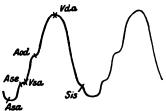
Bürgi hat vor 5 Jahren eine Regel über die Wirkung von Arzneigemischen aufgestellt, deren Richtigkeit sich an vielen Einzelfällen feststellen ließ, die aber doch nicht ohne Widerspruch geblieben ist. Von Bürgi und seinen Schülern wurden bis dahin namentlich die Kombinationen von narkotischen. insensibilisierenden, sowie von diuretischen Arzneien untersucht. Bürgi und v. Traczewski haben dann über die Wirkung von Organextrakten auf das Herz gearbeitet, wobei eine ganze Reihe von Kombinationen mituntersucht wurde. Da sowohl die Digitalis wie auch das Adrenalin als Erregungsmittel für den Herzmuskel betrachtet werden können, ein gleicher pharmakologischer Angriffspunkt aber nicht anzunehmen ist, konnte man nach der Bürgischen Regel erwarten, daß bei einer Kombination dieser beiden Substanzen eine wirkliche Potenzierung eintrete. Bis zu einem gewissen Grade ist das denn auch, wie ich hier vorwegnehmen kann, der Fall. Bei meinen Untersuchungen sah ich aber bald, daß die Frage Addition oder Potenzierung für Kombinationen von Herzmitteln im allgemeinen gar nicht aufgeworfen werden kann, denn die Effekte der einzelnen Substanzen sind so durchaus verschiedene, daß das gemeinsame Ergebnis eines Gemisches nicht einfach mit dem Ausdruck potenzierte oder additive Wirkung wiedergegeben werden kann, sondern etwas qualitativ Besonderes darstellt. Hierüber haben übrigens Bürgi und v. Traczewski, die ziemlich gleichzeitig mit mir gearbeitet haben, schon die notwendigen Angaben gemacht. Daß das Adrenalin nicht nur ein Gefäß-, sondern auch ein Herzmittel ist, wurde namentlich durch Gottlieb bewiesen. Die Art seiner Wirkung auf das Froschherz ist durch Bürgi und v. Traczewski genauer untersucht worden. Ich kann mich, obwohl ich diese Untersuchungen zum Teil mit ausgeführt habe, hier auf die Angaben dieser Autoren beziehen. Wir werden später auf eine genauere Schilderung dieser Adrenalinwirkung einzutreten haben.

Meine ersten Untersuchungen beschäftigen sich mit der Frage, welche Dosis von Digitalis genügt, um das Froschherz in Systole stillstehen zu lassen, und welche Dosen von Digitalis plus Adrenalin. Ich habe diese Untersuchungen nicht lange fortgesetzt, da sie keine sichern Resultate gaben. Als Digitalispräparat verwendete ich das zur subcutanen Injektion geeignete Digalen. Wir sehen aus der ersten Reihe¹), daß ungefähr 3,0 Digalen in 30 Minuten tödliche Wirkung ausübten. man dem Digalen 1 mg Adrenalin zu, so wirkten u. U. schon bedeutend kleinere Mengen, z. B. 2,0 oder 1,0 Digalen, tödlich. Die Zahl 1,0 ist wohl etwas zu niedrig gegriffen, weil wir in den Versuchen, die hier aufgeführt werden können, außerordentlich schwache Frösche von geringem Gewicht verwendet hatten. Das Adrenalin schien immerhin die tödliche Dosis von Digalen deutlich herabzusetzen. Doch gingen wir von dieser Versuchsanordnung rasch ab, weil sie uns nach mancher Richtung hin mangelhaft schien, und alle weiteren Versuche machte ich dann mit dem bekannten Engelmannschen Suspensionsverfahren. Wir verwendeten ausschließlich Rana esculenta, weil Rana temporaria nicht zu unserer Verfügung stand, und wir sind vielleicht gerade deshalb zu einigen interessanten Resultaten gekommen, die sich nur an einem verhältnismäßig so resistenten Herzen, wie es Rana esculenta besitzt, erhalten ließen. Den Fröschen wurde in Urethannarkose der Thorax geöffnet, das Herz freigelegt, die Spitze gefaßt und die Bewegungen des Herzens nach der bekannten Methode auf eine berußte

¹⁾ Siehe Ende der Arbeit.

Trommel aufgeschrieben. Die Frösche wurden immer vollständig in mit Ringerscher Lösung befeuchtete Watte eingepackt. Auch das Herz war trichterförmig von feuchter Watte umgeben. Das geschah, um die Tiere bei diesen lange dauernden Versuchen lebensfähig zu erhalten (bis 3 mal 24 Stunden). wurde darauf geschtet, daß die Umgebungstemperatur, die namentlich bei der starken Befeuchtung des Tieres in Betracht fallen konnte, immer eine gleichmäßige war. Das Engelmannsche Kardiogramm hat bei schnellaufender Trommel folgenden Charakter:

Rana temporaria ist, wie bekannt, gegen Digitalis viel empfindlicher als Rana esculenta. Es wird angegeben, daß, wenn man die minimalen über haupt noch wirksamen Dosen mit denjenigen vergleicht, welche eben imstande sind, systolischen Stillstand hervorzurufen, sich die ersteren zu den letzteren beim Herzen von Rana temporaria verhalten wie 1:4.



Kurve 1. Asa = Anfang von Atriensystole. Ase = Ende der Atriensystole.

Vsa = Anfang der Ventrikelsystole. Aod = Aortendehnung.

Vda = Anfang der Ventrikeldiastole.

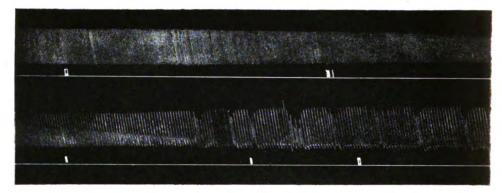
Sis = Sinuscontraction.

bei Esculentaherzen wie 1:19 bis 1:20.

1. Digitalisversuche.

Unsere Resultate veranschaulicht am besten die Kurve 2a Doch sind die Resultate immer gleichartig gewesen. Wird Digalen eingespritzt, so steigen zunächst die Ausschläge, und die Fußpunkte der Kurven gehen sichtlich in die Höhe. Allmählich wird dann die Distanz vom Fußpunkt zur Atrioventrikularzacke etwas kürzer, man kann auch sagen, die tetztere steigt mit dem Fußpunkt herunter, schließlich ist sie ganz am Fußpunkt angelangt, der sich nun verbreitert und etwa aussieht, wie eine nahe an der Spitze abgebrochene Messerklinge. Die Aortendehnungszacke steigt ebenfalls etwas herunter und flacht sich ab. Schließlich hat man (siehe hier namentlich die mit 9, 10 und 11 bezeichneten Abschnitte der Kurve 2a und b) eine Kurve vor sich, die weder eine Atmoventricular- noch eine Aortendehnungszacke mehr zu haben scheint.

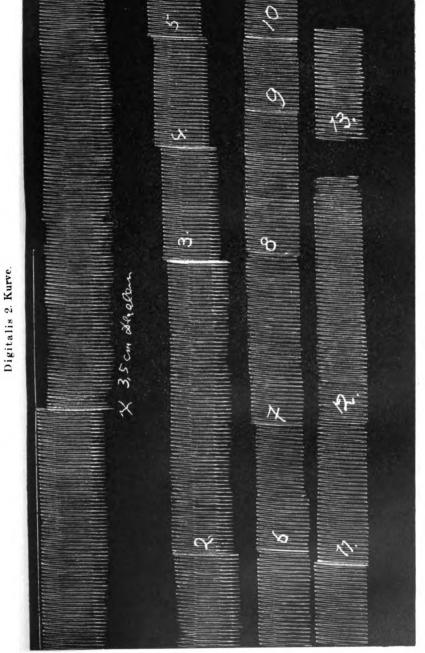
Digitalis.



Kurve 2.

Tatsächlich ist aber nur die Atrioventrikularzacke bis zum Fuß heruntergerutscht und die Aortendehnungszacke gibt sich immerhin kund durch ein Rückweichen der aufsteigenden Kurve vom obern Drittel an. Allmählich wird die Atrioventrikularzacke dann wieder etwas sichtbarer (siehe 12, 13 und 14), und hierauf beginnt das Stadium, das wir als das eigentlich toxische bezeichnen müssen. Der zweite Herzschlag wird immer kleiner. Es wechselt also eine vollständige mit einer unvollständigen Systole ab, und wir können von einem Pulsus alternans reden. Die Verhältnisse sind eigentlich genauer geschildert so:

Der erste Puls hat eine normale Systole, aber eine nicht ganz vollständige Diastole, so daß der Fußpunkt der nachfolgenden Herzcontraction etwas zu hoch steht. Der zweite Puls hat dann eine unvollständige Systole, aber eine vollständige Diastole. Die zweite kleinere Contraction nimmt an Größe immer mehr ab, schließlich ist sie nur noch in Form einer Erhebung auf dem absteigenden Schenkel des größeren Pulses bemerkbar und zwar etwa am untersten Drittel. Dieses Verhalten bleibt bestehen, bis dann Unregelmäßigkeiten der Herzaktion eintreten. Die Resultate waren in allen von mir vor-



Kurve 2a.

Digitalis 3. Kurve.

genommenen Experimenten die gleichen. Sie sind natürlich nicht auf allen Kurven gleich schön sichtbar, aber doch überall deutlich genug. Bei kleinen Dosen bleibt der Pulsus alter-Je größer die Dosis ist (natürlich im Vergleich zu dem Tiergewichte), desto rascher stellt er sich ein und desto länger dauert er an. Bevor der Pulsus alternans erscheint, tritt (das ist in unsern Kurven, wo die Zeitmarkierung gewöhnlich fehlt, nicht ohne weiteres zu bemerken) die typische Pulsverlangsamung, die in der Hauptsache als Vaguswirkung zu bezeichnen ist, auf. Die Zeitdauer vom Momente der Injektion bis zum Auftreten des Pulsus alternans bleibt bei Verwendung der gleichen Digitalismenge pro Gewicht des Frosches bis auf wenige Minuten konstant. Wir sind daher der Meinung, daß sich diese Intoxikationserscheinung (Pulsus alternans) eventuell ganz gut zur Standardisierung von Digitalissubstanzen verwenden ließe. Wenn die Dosen groß genug waren, so trat zum Schluß gewöhnlich der bekannte systolische Stillstand des Herzens ein, allerdings meist nach außerordentlich langer Zeit. Die geschilderten Beobachtungen sind nicht durchaus neu. Wir betonen aber im Gegensatze zu anderen Autoren die außerordentliche Regelmäßigkeit der Erscheinungen und damit ihre Verwendbarkeit für die Beurteilung von Digitaliswirkungen.

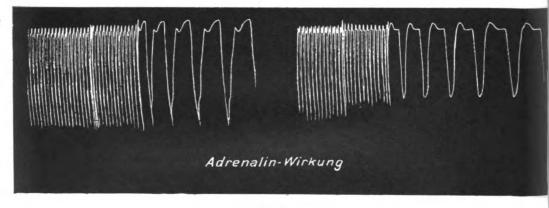
2. Adrenalinwirkung.

Die Wirkung des Adrenalins war der durch Digitalis hervorgerufenen beinahe entgegengesetzt. Das einzige, was man mit der Digitaliswirkung vergleichen konnte, war das anfängliche Größerwerden der Ausschläge und das Heraufrücken der Fußpunkte. Die Atrioventrikularzacke wird etwas spitzer und klettert an dem aufsteigenden Schenkel empor. Die Aortendehnungszacke steigt stark in die Höhe, rückt immer mehr nach dem Gipfel zu, indem sie gleichzeitig akzentuiert wird. Sie kann vollständig auf den Kurvengipfel gelangen, ja sogar unter Umständen erst auf dem absteigenden Schenkel der Kurve zum Ausdruck kommen. Das Adrenalin scheint übrigens beim Frosch nicht so rasch zerstört zu werden wie bei Warmblütern, da man seine charakteristische Wirkung oft einige Stunden

lang beobachten kann. Allerdings dauert sie doch nicht so lange wie die des Digitalis. Unserer Meinung nach hängt die charakteristische Adrenalinwirkung unzweifelhaft mit der bekannten Gefäßcontraction, die von dieser Substanz hervorgerufen wird, zusammen. Das Herz hat einfach eine größere Mühe, sich gegen den erhöhten Aortendruck zu entleeren.

Es dauert daher die Systole eine bedeutend längere Zeit als unter normalen Verhältnissen oder gar bei Digitaliswirkung. Wenn man außerdem noch bedenkt, daß durch Adrenalin die Nervi accelerantes des Herzens erregt werden, also eine beträchtliche Steigerung der Herzfrequenz eintritt, während die Digitalis umgekehrt den Vagus erregt, so versteht man, daß der Gesamteffekt bei einer gleichzeitigen Verwendung von Adrenalin und Digitalis weder einer Addition noch einer Potenzierung der Grundwirkungen entsprechen kann, sondern etwas Besonderes darstellen muß.

Adrenalin.



Kurve 3.

Wirkung der Digitalis-Adrenalinkombination.

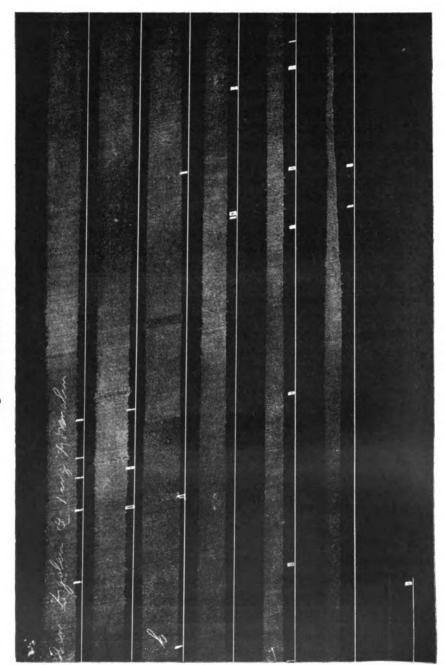
Wir haben diese Kombination in vielen Fällen untersucht und die Versuchsbedingungen variiert, so daß wir z.B. das eine Mal zuerst Digitalis, dann Adrenalin gaben, das zweite Mal umgekehrt: zuerst Adrenalin dann Digitalis, und das dritte Mal beide Substanzen miteinander. Eine vorübergehende sichtliche Steigerung des Blutdruckes konnte durch die Kombination regelmäßig erzielt werden. Doch hielt diese Wirkung, die man als potenziert bezeichnen konnte, nicht sehr lange an. Im allgemeinen überwiegt bei gleichzeitiger Einfuhr von Digitalis und Adrenalin der Digitalischarakter der Kurve, nur werden die Ausschläge mit der Zeit eher etwas weniger groß, und der Pulsus alternans bildet sich nicht aus. sonst ziemlich typischen Digitalispulse werden immer kleiner und kleiner, und es beginnt dann eine leichte Unregelmäßigkeit, die hie und da ein bißchen an den Pulsus alternans erinnert, dann aber in eine immer stärkere Unregelmäßigkeit verbunden mit einem Immerkleinerwerden des Pulsus übergeht. Öfters traten langdauernde diastolische Stillstände ein. Schließlich blieb das Herz wie sonst in Systole stehen. ganzen muß die Wirkung der Kombination, wenn man nicht nur die anfängliche Steigerung des Druckes, sondern die Gesamtleistung in Berücksichtigung zieht, als eine ungünstige bezeichnet werden. Gibt man nach einiger Zeit eine zweite Dosis Adrenalin, so bildet sich die schon erwähnte charakteristische Adrenalinwirkung aus, das Herz steht aber dann relativ schnell in Diastole still.

Digitalis-Schilddrüsenkombination.

In einer weiteren Reihe von Versuchen haben wir Digitalis mit Thyreoglandol kombiniert. Die Thyreoidea hat nach den Untersuchungen von Bürgi und v. Traczewski eine der Digitalis sehr ähnliche Wirkung. Wir sehen tatsächlich genau die gleichen Veränderungen der Kurve auftreten, nur bildet sich der Pulsus alternans nicht aus, auch sieht man weniger starke Unregelmäßigkeiten. Im großen und ganzen konnten wir für das Herz der Rana esculenta die Thyreoidea als das ungiftigste Organprodukt betrachten 1). Es war nun interessant, die Wirkung der Kombination von Digitalis und Thyreoglandol zu beobachten. Wir haben darüber verschiedene Untersuchungen angestellt und geben eine charakteristische Kurve wieder. Wenn diese beiden Substanzen miteinander verabreicht werden.

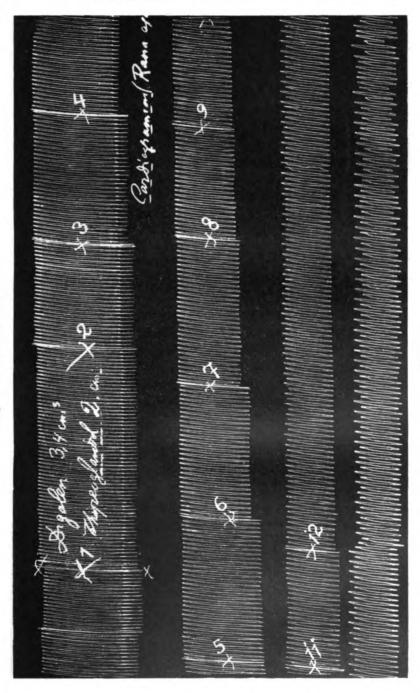
¹⁾ Siehe Bürgi u. Traczewski a. a. O.

Digitalis und Adrenalin.

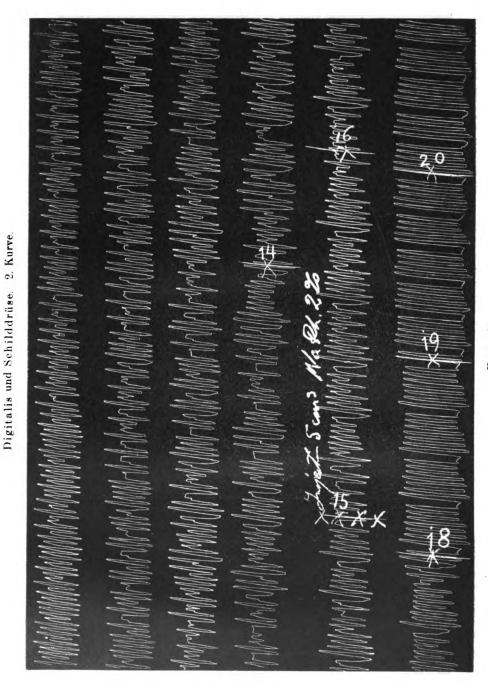


Kurve 3a.





Digitalis und Schilddrüse.



so resultiert in erster Linie eine erhebliche Vergrößerung der Ausschläge, und ein Heraufgehen des Blutdruckes, das durch das Emporsteigen der Kurvenfußpunkte charakterisiert ist. Hierauf sehen wir das Herunterrutschen der Atrioventrikularzacke auf den Fußpunkt der Kurve, ebenso das Herabsteigen der Aortendehnungszacke, kurz alles, was wir schon bei der Digitaliswirkung beschrieben haben. Dann tritt eine leichte Änderung des Pulsus alternans auf.

Doch niemals erreicht dieses Symptom die Stärke, die wir bei der einfachen Digitaliswirkung gesehen haben. Der zweite Puls, den wir als den schwächeren bezeichnen, wird niemals vollständig aufgehoben. Es folgen dann Unregelmäßigkeiten, die sich nicht genau charakterisieren lassen und die immerhin nicht so hochgradig sind, wie wenn man Digitalis allein gibt. Wir haben dann in dem einen Fall, der durch die beigelegte Kurve veranschaulicht ist, wie übrigens auch in vielen anderen Fällen, Natrium phosphoricum injiziert, das v. Traczewski als einen guten Antagonisten für die Thyreoideawirkung erkannt hat. Tatsächlich bewirkte eine Injektion von 5 ccm einer 20/0 igen Natriumphosphoricum-Lösung ein relatives Regelmäßigwerden der schon stark unregelmäßigen Kurve, hauptsächlich möchten wir aber hervorheben, daß die Kurve nach der Injektion von Natrium phosphoricum den Charakter einer reinen Digitaliskurve (toxisches Stadium) angenommen hat. Es wurde damit wahrscheinlich gemacht, daß das Natrium phosphoricum einfach die typische Thyreoglandolwirkung beseitigte, so daß dann nur noch die Digitaliswirkung sichtbar blieb.

Versuch mit Digalen.

Gewicht g	Dose	Zeit Minuten	Resultat	
28	2,5 A.D.	30	nicht tödlich	
28	2,5 "	30	do.	
29	2,75 "	30	do.	
17	2,75 "	30	do.	
31,5	3,0 "	30	do.	
22	3,0 "	30	do.	
20	3,0 "	30	tödlich	
19	3,0 "	30	do.	
17	3,0 "	30	do.	
17	3,0 "	30	do.	

A.D. = Ampullen Digalen.

14 F. Schapiro: Wirk. v. Digitalis allein u. m. Adrenalin u. Schilddrüse usw.

Versuch mit Digalen + Adrenalin.

Gewicht g	Dose	Zeit Minuten	Resultat
43	2 A.D. + 0,001 Adrenalin	30	nicht tödlich
17	2 + 0,001	30	tödlich
16	1.5 n + 0.001 n	30	nicht tödlich
37	1.5 n + 0.001 n	30	do.
15	1 + 0.001	30	do.
10	1 + 0.001	30	tödlich
10	1 n + 0.001 n	30	do.

A.D. = Ampullen Digalen.

Adrenalin und Digalen wurden subcutan gegeben. Nach 30 Minuten wurde nachgeschaut, ob das Herz in Systole stillstand.

Die Bedeutung der Elektrolyte für Quellungsprozesse.

A. Die Wirkungen der einzelnen Elektrolyte.

Von

Rmil Lank.

(Aus der biologischen Versuchstation Lunz, Nieder-Österreich und der großherzoglichen technischen Hochschule zu Darmstadt...

(Eingegangen am 4. Oktober 1915.)

Mit 30 Figuren im Text.

1. Literatur.

Die Nahrungsstoffe bestehen aus organischen und anorgani-Durch Verbrennung des organischen Materials schafft sich der Organismus seine freie und gebundene Energie. Das Wasser ist das Reaktionsmedium, ohne das Lebensprozesse unmöglich sind. Die Anwesenheit anorganischer Salze schien ziemlich belanglos zu sein, und die bei der Verbrennung organisierter Substanz zurückbleibende Asche wurde als Verunreinigung angesehen. Die letzten zwei Jahrzehnte haben ein schier unendliches Tatsachenmaterial zutage gefördert, durch das die Bedeutung des anorganischen Milieus für Lebewesen bewiesen, wenn auch nicht völlig erkannt wurde. Es wurde speziell festgestellt, daß die Unentbehrlichkeit eines anorganischen Salzes an eine bestimmte Konzentration geknüpft ist, deren Überschreitung schädlich wirkt, und die weit interessantere Tatsache, daß die Giftwirkung eines Neutralsalzes durch andere Neutralsalze paralysiert werden kann.

Die Botaniker haben weit früher als die Tierphysiologen die Wichtigkeit des anorganischen Materials erkannt. Aber auch hier hat der Mangel an Beobachtung und die Furcht vor dem Experiment zu schwerwiegenden Fehlern geführt. Durch die Unkenntnis der analytischen Methoden bestand der von Helmont (1577 bis 1644) unterlaufene Fehler bis 1800 zu Recht, daß das Wasser die geeignetste Pflanzennahrung dar-

16 E. Lenk:

stellt. Erst im Jahre 1800 hat Saussure¹) festgestellt, daß die Landpflanze ihre Mineralstoffe aus dem Erdboden bezieht, und keine neuen Aschenbestandteile als die bildet, die ihr der Boden bietet. Wie wenig aber die Beobachtung auch von seiten bedeutender Naturforscher gewürdigt wurde, zeigt die Ansicht Döbereiners³), der die Entstehung des Kali in der Pflanze als ungewiß hinstellt und die Meinung Mollerats³), wonach die Kartoffelknolle ihr Kali selbst produziert. Erst Wiegmann und Polstorff⁴) ist es gelungen, diese alchimistischen Träume aus der Welt zu schaffen. Nachdem die Unentbehrlichkeit des anorganischen Materials für Pflanzen erkannt worden ist, war die zweite Aufgabe, die Bedeutung der einzelnen Salze zu studieren. Liebig⁵) gebührt das Verdienst, hier zahlreiche Methoden angegeben zu haben, und durch die Studien einiger Forscher⁵) konnte die Lösung dieser Aufgabe durch Verwendung der Wasserkulturen zu einem gewissen Abschluß gebracht werden.

Die Bedeutung des anorganischen Materials für Tiere wurde erst viel später erkannt. In einem berühmten Versuche zeigte Forster?) das Hunde, die mit salzarmer Nahrung gefüttert wurden, zugrunde gingen. Erst Jaques Loeb ist es geglückt, die Bedeutung geeigneter Salzgemische für die Aufrechterhaltung des Lebens für Seewassertiere festzustellen.

Die Notwendigkeit der Anionen für Pflanzen liegt zweifellos wenigstens für NO₅, SO₄ und PO₄ darin, daß sie zum Aufbau der Eiweißstoffe dienen. Die Natur der Kationen erscheint zunächst vollständig rätselhaft. Erst die Gegenüberstellung des anorganischen

¹⁾ Th. de Saussure, Gilb. Ann. 6, 459, 1800; Ostwalds Klassiker Nr. 16.

²) Döbereiner, Schweiz. Journ. 23, 79, 1818.

³) J. B. Mollerat, Ann. chim. phys. 2, 28, 165, 1825; Bracannot, Ann. de Chim. 61, 187, 1807; Pelletier, Berzellius Jahresber. 18, 247, 1831.

⁴⁾ A. F. Wiegmann und L. Polstorff, Über die anorganischen Bestandteile der Pflanzen, Braunschweig 1842.

⁵) J. v. Liebig, Die organische Chemie in ihrer Anwendung auf Agrikultur und Physiologie.

⁶⁾ J. Sachs, Sitzungsber, d. Wien, Akad. 26, 331, 1858; Landw. Versuchst. II, 22, 224, 1860; Knop, Landw. Versuchst. II., 65, 1860; III, 295, 1861; Nobbe, Jahrb, Agrik, Chemie 1861.

⁷⁾ J. Forster, Zeitschr. f. Biol. 9, 297 u. 369, 1873; Arch. f. Hygiene 2, 423, 1864; N. Lunin, Malys. Jahrb. für Thierchemie 1880, 435. Zeitschr. f. physiol. Chem. 5, 31, 1881; C. M. Belli, Zeitschr. f. Biol. 45, 182, 1903; Noeggerath, Beiträge z. chem. Physiol u. Pathol. 7, 313, 1905; A. E. Taylor, Univ. of Calif. Publ. Pathol. 1, 71, 1904; H. W. Goodalland. E. P. Joslin, Trans. of the Assoc. of Americ. Phys. 23, 92, 1908.

Materials als Nährstoffe und Schutzstoffe (Loeb) führte zur Erkenntnis, daß die Nährstoffe (CO₂, NH₄, NO₂, PO₄, SO₄) direkt zum Aufbau des Zellmaterials dienen, daß aber die Schutzstoffe nur indirekt am Zellaufbau beteiligt sind, da ihr Fehlen mit Strukturänderungen der Zellen einhergeht. Die Bedeutung der Kationen ist jedenfalls in der Einwirkung auf die Zellenbestandteile zu suchen, und hier sind es vor allem die Eiweißstoffe, die dank ihrer kolloidalen Natur am meisten von Salzen beeinflußbar sind.

Ehe man an das Studium der Einwirkung anorganischer Stoffe auf die Kolloide der Zelle herantreten konnte, mußten erst die Beziehungen der Elektrolytlösungen auf einfache Kolloide untersucht werden. Die erste bedeutende Arbeit über die Einwirkung von Neutralsalzen der Alkalien stammt von Franz Hofmeister¹) her, in der er zeigen konnte, welche Mengen verschiedener Alkalisalze nötig sind, um eine Lösung von Eiereiweiß eben zu trüben. Es ergab sich das überaus wichtige Resultat, daß die Anionen folgende Fällungsreihe bilden:

SCN,
$$J < ClO_3 < NO_3 < Cl < CH_3 \cdot COO < SO_4 < Tartrat < Zitrat.$$

Auch die Quellung der Gelatine wird von den Ionen beeinflußt, wie dies Hofmeister¹) zum ersten Male feststellte, indem sich die Anionen in die Reihe bringen lassen: Br, $NO_2 < Cl < CH_2 \cdot COO < Zitrat < Tartrat < SO_4$, d. h. daß die Anionen der linken Seite die Gelatine zum Quellen bringen, während sie bei der Einwirkung der rechtsseitigen Anionen schrumpfen. Diese Anionenreihe ergibt sich auch für die Verkürzung der Erstarrungszeit von Eiweißlösungen (Pauli²), v. Schröder).²)

Diese außerordentlich interessante Beeinflussung durch Ionen findet bei echten Lösungen einige Analoga. So hängt die Geschwindigkeit der Esterkatalyse durch Säuren und der Rohrzuckerinversionen durch Säuren von Anionen der Alkalien nach der Reihe $SO_4 < Cl < Br$ ab, so wird die Viscosität des Wassers durch Anionen gemäß der Reihe I < Br, $NO_3 < Cl$, SO_4 geändert usw.4), Anomalien, die Freundlich⁵) als lyo-

Hofmeister, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 25, 13, 1898; 27, 1, 395, 1888; 28, 210, 1891; Wo. Ostwald, Arch. f. d. ges. Physiol. 11, 581, 1906; Spiro, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 5, 276, 1904; "Über physikalische und physiol. Selektion", Straßburg 1897. — An Tierblase hatte schon Liebig 1848 in Untersuchungen über einige Ursachen der Säftebewegungen im tierischen Organismus festgestellt, daß die Quellung in Salzlösungen größer sei als in Wasser.

²⁾ Pauli u. Rona, Beiträge z. chem. Physiol u. Pathol. 2, 1, 1902.

³⁾ v. Schröder, Zeitschr. f. physikal. Chem. 45, 75, 1903.

⁴⁾ Literatur s. Rudolf Höber, Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. Leipzig 1911. III. Aufl., S. 355f.

⁵) Freundlich, Kapillarchemie, S. 54; Schade, Kolloidzeitschr. 7, 26, 1910.

18 E. Lenk:

trope Einflüsse bezeichnet und als eine Beeinflussung des Lösungsmittels durch die Elektrolyte auffaßt.

Bei biochemischen Prozessen finden wir ebenfalls charakteristische Ionenreihen¹); zu erwähnen wäre die Arbeit Höbers über die Beeinflussung der Hämolysierfähigkeit der roten Blutkörperchen, die Untersuchungen Lillies am Seeigel Arbacia und an der Meeresannalide Ārenicola, die Arbeiten Overtons über die Wirkung der Alkalien auf die Muskelerregbarkeit, die Untersuchungen über die Reizbarkeit motorischer und sensibler Nerven mit verschiedenen Elektrolyten usw. Interessante Ergebnisse ergaben die Versuche mit Flimmerzellen und Spermatozoen, die das Resultat zeitigten, daß der günstigste Zustand des anorganischen Milieus für die Flimmerzelle entgegengesetzt ist dem, der am günstigsten für die Muskeltätigkeit ist. Ferner wird, um noch einige Beispiele zu erwähnen, das Färben von Geweben von Salzen beeinflußt, und die Aufnahme der basischen Farbstoffe²) durch die lebende Pflanzenzelle bei Gegenwart von bestimmten Elektrolyten verschiedenartig verzögert.

2. Eigene Untersuchungen.

a) Einleitung.

Ich hatte es mir zur Aufgabe gestellt, zuerst den Zusammenhang zwischen Konzentrationen einer Salzlösung und der Lebensdauer von Wassertieren zu untersuchen, um dann zu Salzkombinationen überzugehen. Es ist eigentlich zu verwundern, daß diese außerordentlich interessanten und biochemisch wichtigen Ergebnisse, die die Untersuchungen Loebs ergaben, zwar eine ganze Flut von Publikationen ins Leben riefen, daß aber diese so wenig zur Erklärung beitragen konnten, daß für die Physikochemiker noch eine reiche Fülle von Arbeit übrig bleibt. Während die Autoren zu ihren Versuchen die Salzkonzentrationen, wie sie im Meerwasser vorkommen, verwendeten, und durch Ausschluß des einen oder anderen bekannten Bestandteiles diesen Problemen näher zu kommen suchten, schien es mir von Vorteil zu sein, erst die Wirkungen der einzelnen Elektrolyte in verschiedenen äquimolekularen Konzentrationen auf organisierte und nicht organisierte Kol-

¹) Literatur s. R. Höber, Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. Leipzig 1911. III. Aufl., S. 397 ff.

⁹⁾ J. Szucz, Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wissensch. Math.-naturw. Kl. 119, 737, 1910; Jahresber. f. wissensch. Botan. 52; Pfeffer, Unters. a. d. bot. Inst. Tübingen 2, 179, 1886; J. Endler, Diese Zeitschr. 42, 1912; 45, 1912.

loide zu studieren, um dann erst zu Salzkombinationen überzugehen. Parallel hiermit sollten systematische Versuche über die Abhängigkeit des Kolloidzustandes von Salzkombinationen an Gelatine vorgenommen werden, Untersuchungen, die bisher fehlten. Die Parallelität der Salzwirkungen auf verschiedene hydrophile Kolloide mußte einerseits den Zusammenhang zwischen antagonistischen Ionenwirkungen und Kolloidvorgängen ergeben und anderseits feststellen, ob die Giftwirkung von Salzlösungen mit einer Änderung des Quellungszustandes irgend etwas zu tun habe.

b) Versuchsobjekte:

Gelatine.

Zur Darstellung des Versuchsmaterials kam "reinste" Kochgelatine zur Verwendung, von der 40 g in 200 ccm warmem Wasser gelöst wurde. Die in eine flache (photographische) Schale ausgegossene Lösung erstarrte bald und wurde in den später zu beschreibenden, mit Wasserdämpfen gesättigten Kasten gegeben, um die sonst überaus leichte Wasserabgabe von seiten der Gelatine zu verhindern. Erst nach 24 Stunden kam die Gelatine zur Verwendung. Bei jedem neuen Versuch wurde eine Trockenbestimmung der Gelatine vorgenommen. Bei den Versuchen, die in der Lunzer biologischen Station angestellt wurden, betrug die Trockensubstanz aus rund 30 Trockenbestimmungen im Mittel $15,96^{\,0}/_{\,0}$, während die in Darmstadt ausgeführten Versuche eine Trockensubstanz von durchschnittlich $16,76^{\,0}/_{\,0}$ ergaben.

Bohnen.

Von pflanzlichen Kolloiden wählten wir Samen von Phaseolus vulgaris, deren Keimfähigkeit 100% betrug. Bei diesem Versuchsmaterial mußte dafür gesorgt werden, daß die Bohnen vollständig von der Flüssigkeit umspült wurden, was leicht durch schräg gestellte Uhrgläschen bewirkt wurde.

Süßwassertiere.

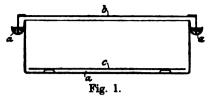
Unter den Süßwassertieren, die im Lunzer See vorkommen, mußte eine bestimmte Auswahl getroffen werden, wobei die leichte und genügende Beschaffung des Materials, gleiche 20

Spezies, einheitliche Größe, eine gewisse Widerstandsfähigkeit und leichte Erkennung des Todespunktes ausschlaggebend waren. Wir versuchten es mit Wasserschnecken, Blutegeln, Planarien und einer Cyprinoidenspezies, Phoxinus laevis. Wasserschnecken waren nicht gut brauchbar, weil sie sich sofort beim Einbringen in die betreffenden Lösungen in ihr Gehäuse zurückzogen und dies ein deutliches und schnelles Erkennen des Todes ausschloß, andererseits diese Tiere wegen der Undurchlässigkeit ihrer Kalkgehäuse eine nicht genügend große Angriffsfläche für die Lösungen boten. Blutegel reagierten auf die Salzwirkung als Reiz durch eine reiche Schleimabsonderung, die geeignet war, die wahren Resultate der Quellungsänderungen zu verdecken: auch der anatomische Bau der Blutegel mit ihrem großen Verdauungstrakt ist für quantitative Quellungsbestimmungen sehr hinderlich. Planarien waren wegen ihrer Kleinheit, ihrer großen Empfindlichkeit gegen Temperatureinflüsse und der Schwierigkeit des Trocknens von vornherein ausgeschlossen. Hingegen erwiesen sich Pfrillen, die im Lunzer Untersee zahlreich vorkommen, als sehr geeignetes Versuchsmaterial. Schon ihre Größenverhältnisse und die Fähigkeit. sich auf den osmotischen Druck der Außenflüssigkeit einzustellen (homoiomotisch), machte sie für unsere Versuche sehr brauchbar.

c) Methodik.

Die Gelatineparallelepipede und die Bohnen wurden in gleichgroße Bechergläser, die mit je 40 ccm Flüssigkeit gefüllt waren, verteilt und in einem mit Wasserdämpfen gesättigten Kasten stehen gelassen. Um die durch Wasserverdunstung eintretende Konzentrierung der Salzlösungen hintanzuhalten, kam ein Apparat (Fig. 1) zur Anwendung, den ich für frühere Versuche benutzt hatte¹). Zu dieser Untersuchung habe ich ihn noch etwas verbessert und bringe hier eine Zeichnung desselben, weil er sich wohl für ähnliche Zwecke als praktisch erweisen dürfte.

¹) E. Lenk, VIII. internat. Physiologenkongreß Wien 1910, im Zentralbl. f. Physiol. 24, 831, 1910; A. Kreidl und E. Lenk, Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wiss. 119, 365, 1910 u. 120, 229, 1911; Wiener klin. Wochenschr. 24, 1667, 1911.



a Wasser; b Glasplatte in Zinkblech eingefaßt, das rechtwinklig abgebogen im Wasser ruht; c Zinkblechplatte auf Stützen, auf der die Gläschen stehen.

Die Feuchtigkeit im Zinkblechkasten wurde mit Hilfe eines Hygrometers nach Lamprecht gemessen. Die beiden Versuche sollen die rasche Sättigung des Raumes mit Wasserdämpfen beweisen.

Tabelle I.

Tabelle II.

Zeit	Feuchtigkeit i. d. Kammer °/ ₀	d. Kammer Zeit	Feuchtigkeit i. d. Kammer °/0
Bei Beginn Nach 2 Min. 7 7 7 13 7 16 7 21 7 31 7 41 7 46 7 66 7 101 7 3 Std.	50 60 67 70 78 83 87 91 94 95 96 97	Bei Beginn Nach 2 Min. 10 n 25 n 43 n 3 Std. 22 Min.	58 71 91 95 98 100

Die Quellungsänderung wurde durch Wägung bestimmt, indem die Gelatineplatten und Bohnen vor jeder Wägung auf gehärtetem Filtrierpapier vom anhaftenden Wasser befreit wurden.

Für die Bestimmung der Quellungsänderung bei lebenden Tieren wurde folgende Methode ausgearbeitet. Die Fische wurden in einem großen Aquarium gesammelt, das stets von Leitungswasser durchströmt war. Beim Wägungsversuche übertrugen wir sodann die zum Versuch zu verwendenden Fische zweimal nacheinander in destilliertes Wasser, um sie von anhaftenden Seesalzen zu reinigen. Sodann fischten wir je einen Fisch mit einem kleinen Netze, das an einen passend gebogenen Glasstab befestigt war, heraus und wuschen ihn im Netze nochmals mit destilliertem Wasser. Der Fisch wurde sodann auf einem feinen Batist sorgfältig, aber doch sehr schnell getrocknet und in einen mit destilliertem Wasser gefüllten und hierauf abgewogenen Erlenmeyerkolben gebracht.

22 E. Lenk:

Dieser war mit einem Uhrgläschen bedeckt und ließ dem Fisch freie Beweglichkeit. Hierauf wurde das Eigengewicht des Fisches bestimmt, sodann der Kolbeninhalt durch ein Netz gegossen und der Fisch in die betreffende Salzlösung gebracht. Von Zeit zu Zeit wurde derselbe aus der Lösung herausgeholt, auf die oben erwähnte Weise getrocknet und wieder in einen Erlenmeyerkolben gegeben, der nun diejenige Lösung enthielt, die jeweilig zum Versuch verwendet wurde. Auf diese Weise konnte erreicht werden, daß der Fisch sich während des Versuches stets im gleichen Medium befand.

Bei diesen Wägungsversuchen sowohl wie bei den im großen Maßstabe ausgeführten Versuchen wurden von jeder Konzentration Parallelbestimmungen angestellt; zu jeder Probe kamen je 5 Fische zur Verwendung.

Die Fische befanden sich hierbei in Glasaquarien, die vor dem Versuche dreimal mit destilliertem Wasser, hierauf mit der betreffenden Lösung ausgewaschen wurden. Mit Hilfe eines Durchlüfters wurde in jedes einzelne Aquarium Luft verteilt. Die Luft wurde vom Hauptrohr durch abzweigende Rohre in enge Glasröhren geleitet, die mit Hilfe eines kurzen Gummischlauches mit einem schief abgeschnittenen kurzen Rohr (spanisches Rohr) verbunden waren, das die Luftblasen fein verteilte. Auch diese Glasröhren mit ihren Ansätzen wurden vor dem Versuche stets mit destilliertem Wasser gewaschen und dann mit der betreffenden Lösung durchspült. Die Luft trat in alle 36 Aquarien gleichmäßig ein, was durch regulierbare Quetschhähne bewirkt wurde. Während des Versuches waren die Aquarien mit Glasplatten zugedeckt.

Obzwar wir bei allen Versuchen stets die gleiche Flüssigkeitsmenge von 500 ccm benutzten, suchten wir uns Gewißheit zu verschaffen, ob die verwendeten prismatischen und zylindrischen Aquarien, beide von je 11 Fassungsraum einerseits, anderseits die Flüssigkeitshöhe, Flüssigkeitsmenge und Anzahl der Fische einen Einfluß auf die Lebensdauer der Fische ausübt. Wir dürfen bereits hier zu bemerken nicht unterlassen, daß als Lebensdauer nicht die Zeit angenommen wurde, bis im stets ausgeführten Doppelversuch alle 10 Fische starben, was zu falschen Schlußfolgerungen führen würde. Es wurde wiederholt beobachtet, daß 1 oder 2 Fische die anderen um viele Stunden, ja um Tage überlebten. Wir nahmen vielmehr die Zeit als Lebensdauer an, die bis zum Tode von mindestens 6 Fischen verstrich. Um die oben genannten Fragen zu beantworten, wurden 24 Fische in 8 Aquarien verteilt, in denen sich eine $m/_{20}$ -Bariumchloridlösung befand, und zwar befanden sich: 1. in 2 Aquarien à 100 ccm Flüssigkeit je 1 Fisch; 2. in 2 Aquarien à 500 ccm Flüssigkeit je 5 Fische, 3. in 2 Aquarien à 1000 ccm Flüssigkeit je 5 Fische, und 4. endlich in 2 Aquarien à 2500 ccm Flüssigkeit ebenfalls je 5 Fische. Die Lebensdauer war im ersten Falle 2 Std. 24 Min., im zweiten 2 Std. 7 Min., im dritten 2 Std. 5 Min. und im vierten 2 Std. 19 Min. Aus diesen Zahlen geht hervor, daß die oben erwähnten Faktoren keinen Einfluß auf die Lebensdauer haben, die irgendwie die Resultate beeinflussen könnten.

Es sei mir nun gestattet, zu den Versuchen überzugehen. Hervorgehoben sei noch, daß für die Versuche sämtliche Salze Kahlbaumsche Präparate waren, die in reinster Qualität verwendet wurden. Nur in Darmstadt kamen Mercksche Salze (pro analysi) zur Verwendung.

Versuche mit Gelatine.

Die Tabellen, die den Verlauf der Quellung wiedergeben, sind so angelegt, daß sie in der ersten Rubrik die Anzahl der Stunden angeben, nach denen die Gelatine zur Wägung In der zweiten und dritten Rubrik, die mit 1 und 2 bezeichnet ist, sind die Gewichte der Gelatine des Doppelversuches verzeichnet. Die vierte und fünfte Rubrik nimmt auf die entsprechenden Zahlen in Kolonne 1 und 2 Bezug und gibt die pro 1 g trockener Gelatine aufgenommene Flüssigkeitsmenge in Gramm an, während die letzte Rubrik das Mittel der beiden letzteren Zahlen enthält. In den Kurven bedeuten die Zahlen auf der Ordinate die Zeit in Stunden, die Zahlen auf der Abszisse die pro 1 g trockener Gelatine aufgenommene Flüssigkeitsmenge in Gramm. Die Versuche über die Quellung in den einzelnen Konzentrationen sind in eigenen Kurventafeln zusammengestellt. Diese Kurven sind so gezeichnet, daß die Konzentration der Lösung auf der Abszisse und die nach 100 Stunden pro 1 g trockener Gelatine aufgenommene Flüssigkeitsmenge in Gramm auf der Ordinate angegeben ist.

1. Versuche mit verschiedenen Kationen.

Zur Untersuchung kamen nebst destilliertem Wasser (S. 33, Tab. 3, Fig. 5) folgende Chloride in verschiedenen Konzentrationen: Natriumchlorid (S. 34, Tab. 4, Fig. 6 und 7); Kaliumchlorid (S. 34, Tab. 5, Fig. 8); Lithiumchlorid (S. 35, Tab. 6, Fig. 9); Calciumchlorid (S. 35, Tab. 7, Fig. 10); Bariumchlorid (S. 36, Tab. 8, Fig. 11); Magnesiumchlorid (S. 36, Tab. 9, Fig. 12); Manganchlorür (S. 37, Tab. 10, Fig. 13); Queksilberchlorid (S. 38, Tab. 11, Fig. 14) und Eisenchlorid (S. 38, Tab. 12, Fig. 15) Übersicht S. 38, Tab. 13.

Es ist bei den meisten Kurven auf den ersten Blick unzweideutig zu entnehmen, daß die Flüssigkeitsaufnahme der Gelatine von der Konzentration der Salzlösung abhängig ist und zwar derart, daß die Gelatine in fast allen Versuchen in

24 E. Lenk:

den konzentrierteren Lösungen mehr Flüssigkeit aufnimmt, als in den verdünnteren (Ausnahme: Quecksilber- und Eisenchlorid). Eigenartig ist die Lithium- und Calciumchloridkurve. Während die erste sehr steil ansteigt, bleibt die zweite in mittleren Konzentrationen auf gleicher Höhe; in der molekularen Konzentration ist aber die Quellung plötzlich so groß, daß die Gelatine bereits in 2 Stunden vollständig aufgelöst und nicht mehr wägbar ist. Die Eisenchloridkurve fällt aus dem normalen Schema, wie zu erwarten war, heraus. Die wäßrigen Lösungen des Eisenchlorids reagieren, der hydrolytischen Dissoziation entsprechend, stark sauer, wobei die Spaltung mit steigender Verdünnung zunimmt. In den konzentrierten Lösungen überwiegt die fällende Wirkung des Schwermetalls, die mit einer geringen Wasseraufnahme einhergeht. In verdünnter Eisenchloridlösung tritt die Wirkung der Salzsäure stärker hervor als die fällende des Eisensalzes. In Säuren nimmt aber die Gelatine mehr Flüssigkeit auf als in den Salzlösungen oder in Wasser. Der zweite Ausnahmefall des Sublimats ist eigentlich selbstverständlich, da seine Eigenschaft in konzentrierten Lösungen, entgegen den anderen untersuchten Chloriden quellungshemmender zu wirken, auf seiner fällenden Wirkung auf Eiweißstoffe basiert.

Hier ist von Interesse, ob sich die Kationen in Reihen bringen lassen die ähnlich verlaufen wie die im Literaturteil genannten. Ich will deshalb tabellarisch die Zahlen zusammenstellen, die die Flüssigkeitsaufnahme pro 1 g trockener Gelatine bedeuten, nachdem sich die zu Anfang teilweise gequollene Leimplatte 100 Stunden in der Lösung befunden hatte. Die Zeit von 100 Stunden wähle ich nicht nur wegen des Einfachheitsprinzipes, sondern auch, weil zu dieser Zeit in den meisten Fällen die Quellungsvorgänge mit kleiner Geschwindigkeit verlaufen. Das theoretische Quellungsvermögen ist natürlich nicht abzuwarten (Tab. 13, S. 38).

In der molekularen Konzentration ordnen sich die Kationen in folgende Reihen:

Ba, Ca
$$>$$
 Li $>$ Mn $>$ Mg $>$ K $>$ Na;

in der m/5-Konzentration:

Ba
$$>$$
 Mg $>$ Mn $>$ Li $>$ Ca $>$ Na $>$ K;

in der m/10-Konzentration:

In der m/100-Konzentration zeigen die Gelatineplatten in allen diesen Salzlösungen ungefähr die gleiche Quellung wie in destilliertem Wasser, mit Ausnahme des Lithium- und Calciumchlorids, in deren Lösungen die Flüssigkeitsaufnahme etwas kleiner ist als in sämtlichen anderen. In diesen Reihen-- zusammenfassungen sind das Eisenchlorid und Quecksilberchlorid selbstverständlich nicht mit aufgenommen worden. Aber dennoch ist ein Zusammenhang zwischen Wertigkeit und Quellung nur in den höheren Konzentrationen festzustellen (mit Ausnahme des Lithiumchlorids). Je geringer die Konzentration, desto kleiner werden die Unterschiede in der Flüssigkeitsaufnahme der Gelatine; dies geht so weit, daß in den m/100 konzentrierten Salzlösungen — wieder Lithium- und Calciumchlorid ausgeschlossen — die Gelatine ebensoviel Flüssigkeit aufnimmt wie in destiliertem Wasser (Übersicht von S. 38, Tab. 13).

2. Versuche mit verschiedenen Anionen.

Zur Untersuchung kamen folgende Salze: Natriumrhodanid (S. 39, Tab. 14, Fig. 16); benzoesaures Na (S. 39, Tab. 15, Fig. 17); Magnesiumsulfat (S. 40, Tab. 16, Fig. 18); Natriumsulfat (S. 40, Tab. 17, Fig. 19); primäres (S. 41, Tab. 18, Fig. 20) und sekundäres Natriumphosphat (S. 42, Tab. 19, Fig. 21); Natriumthiosulfat (S. 42, Tab. 20, Fig. 22) und Natriumacetat (S. 43, Tab 21, Fig. 23). Übersicht S. 43, Tab. 22.

Beim Vergleich der Kurven, die einen Zusammenhang zwischen Quellung und Konzentration wiedergeben, erkennt man außerordentlich große Verschiedenheiten. Während in einigen Salzen eine Erhöhung der Konzentration mit einer Vergrößerung der Flüssigkeitsaufnahme, wie bei den meisten Chloriden, einhergeht, tritt bei anderen Salzen gerade der umgekehrte Vorgang ein. Eine Erhöhung der Konzentration hat eine Verminderung der Flüssigkeitsaufnahme zur Folge. Der erstere Fall tritt beim rhodan- und benzoesauren Natron ein, ber letztere bei den anderen untersuchten Salzen, für die es jedoch höchst charakteristisch ist, daß eine Erhöhung der Elektrolytkonzentration nicht mit einer konstanten Verminde-

26 E. Lenk:

rung der Quellung einhergeht, sondern, daß es eine Optimalkonzentration gibt, unter und über der die Quellung abnimmt. Dieser Optimalpunkt liegt bei den untersuchten Salzen bei verschiedenen Konzentrationen. So z. B. beim Natriumacetat bei der m/5-, beim Natriumsulfat bei der m/10-Konzentration. Allerdings ist bei den meisten Salzen der Abfall der Kurve zu den höheren Konzentrationen hin bedeutend steiler als zu den verdünnteren Lösungen. Eine interessante Ausnahme dazu bietet das Natriumacetat, das gleichsam einen Übergang zwischen den Salzen der ersten Gruppe (die meisten Chloride, benzoesaures und rhodansaures Natron) und der zweiten Gruppe (Sulfat, Phosphat usw.) bildet.

Es sei mir nun gestattet, wieder tabellarisch die Zahlen zusammenzustellen, die die Flüssigkeitsaufnahme pro 1 g trockener Gelatine bedeuten, nachdem sich die Leimplatten 100 Stunden in den Lösungen befunden hatten (S. 43, Tab. 22).

Danach ordnen sich die Salze in der molekularen Konzentration in folgende Reihe:

NaSCN, benzoesaures
$$Na > Na_2HPO_4$$
, $Na-Acetat > MgSO_4$, $Na_2S_2O_3 > NaH_2PO_4$, Na_2SO_4 ;

in der m/5-Konzentration:

$$\begin{array}{c} {\rm Na_2 HPO_4, \ NaSCN} \! > \! {\rm MgSO_4} \! > \! {\rm NaH_2 PO_4} \! > \! {\rm Na_2 SO_4} \! > \! {\rm Na-Acetat}, \\ {\rm Na_2 S_2 O_3;} \end{array}$$

in der m/10-Konzentration:

$$Na_2HPO_4 > MgSO_4 > benzoesaures Na > Na_2SO_4 > NaH_2PO_4 > NaSCN, Na_2S_2O_3 > Na-Acetat;$$

in der m/100-Konzentration:

$$Na_2HPO_4 > NaH_2PO_4 > Na_2SO_4 > MgSO_4 > Na_2S_2O_3$$
, Na-Acetat, benzoesaures $Na > NaSCN$;

und endlich in der m/1000-Konzentration:

$$\begin{array}{c} {\rm Na_9HPO_4} > {\rm NaH_2PO_4} > {\rm MgSO_4} > {\rm Na_2SO_4} > {\rm Na_2S_2O_8} > \\ {\rm NaSCN,\ benzoesaures\ Na} > {\rm Na-Acetat.} \end{array}$$

Ordnen wir alle Natriumsalze in die Reihe, so erhalten wir für die m/₁-Konzentration:

Rhodanid, Benzoat > Chlorid > sek. Phosphat, Acetat > Thiosulfat > prim. Phosphat, Sulfat;

m/,-Konzentration:

sek. Phosphat, Rhodanid > prim. Phosphat > Chlorid > Sulfat > Acetat, Thiosulfat;

m/10-Konzentration:

sek. Phosphat > Benzoat > Sulfat > prim. Phosphat, Rhodanid > Thiosulfat > Acetat > Chlorid;

m/100-Konzentration:

sek. Phosphat > prim. Phosphat > Sulfat > Thiosulfat, Acetat, Benzoat, Rhodanid > Chlorid.

Vergleichen wir nun unsere Versuche mit denen früherer Autoren, so haben wir zwei Punkte zu berücksichtigen:

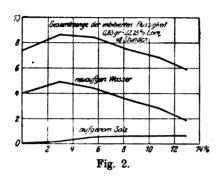
- a) Die Abhängigkeit der Quellung von der Konzentration und
- b) die von Hofmeister aufgestellte Ionenreihe.

A

Was die Abhängigkeit der Quellung von der Konzentration anbelangt, so sagt Hofmeister in seiner Arbeit "Zur Lehre von der Wirkung der Salze", 6. Mitteilung1): "Zwischen der Beeinflussung der Quellung des Leims durch Alkalisalze einbasischer und zweibasischer Säuren besteht kein prinzipieller, sondern nur ein gradueller Unterschied, indem das höhere Anziehungsvermögen der letzteren ein niedrigeres Quellungsmaximum bedingt". Bringen wir z. B. einen Tartratversuch Hofmeisters, S. 221 Nr. 1 der zitierten Arbeit, derart in Kurvenform, daß auf der Ordinate die Konzentration des weinsauren Natriums in Prozent und auf der Abscisse die aufgenommenen Mengen aufgetragen sind (s. S. 28, Fig. 2), so ergibt sich ein ähnliches Kurvenbild, wie z. B. bei unseren Sulfatversuchen. Vergleichen wir aber seine Kochsalzversuche untereinander, so erfolgt, wie bei unseren Versuchen mit zunehmender Konzentration eine Zunahme der gesamtimbibierten Flüssigkeit, bei höheren Kochsalzkonzentrationen wird bei den Versuchen Hofmeisters (S. 217 seiner Arbeit) die Quellung wieder geringer, während bei unseren Versuchen, die selbst bis zu einer 4 m (23% jeen)

¹⁾ Fr. Hofmeister, Arch. f. experim. Pathol. u. Therapie 28, 222, 1891.

Kochsalzlösung fortgeführt wurden, der Konzentrationszunahme auch eine erhöhte Quellung entspricht. Nun ist aber bei den Versuchen Hofmeisters sehr merkwürdig, daß beim 1. Versuch die Quellung bis zu einer 13,04% jegen, beim 2. bis zu einer 13,79% jegen Kochsalzlösung ansteigt, während beim 3. Kochsalzversuch die optimale Quellung bei einer nur 1,381% jegen Lösung liegt; leider ist dieser Versuch nur bis zu einer 1,768% jegen Kochsalzlösung weitergeführt. Jedenfalls sind die Versuche keineswegs untereinander vergleichbar, weil sie mit



stets verschiedenen schweren Leimplatten (1. Versuch — Leimplatte 0,9 g, Trokkengewicht 11,06°/₀; 2. Versuch: Leimplatte 0,75 g, Trockengewicht 20,94°/₀; 3. Versuch: Leimplatte 0,6 g, Trockengewicht 29,87°/₀) und verschieden langer Versuchsdauer (1. und 2. Versuch 48 Stunden, 3. Ver-

such 72 Stunden) durchgeführt wurden.

Eine andere Arbeit, die sich mit dem Zusammenhang zwischen Quellung und Konzentration beschäftigt, ist von Wolfgang Ostwald1) ausgeführt worden. Während bei den Ostwaldschen Untersuchungsreihen der Einfluß der Elektrolykonzentrationen ein komplizierter ist, ist dies bei meinen Versuchen, wie gezeigt wurde, ganz und gar nicht der Fall. Allerdings ist das Material bei der Ostwaldschen Untersuchung ein ganz anderes als bei meiner. Ostwald operierte mit kleinen Platten von 0,1 bis 0,15 g Trockengewicht, die er ca. 1 Woche langsam trocknen ließ. Diese trocknen Platten wurden dann in bestimmte Salzlösungen gelegt und von Zeit zu Zeit zur Wägung gebracht. Zuerst sei ein Versuch mit verschiedenen konzentrierten Kochsalzlösungen als Außenmedium erwähnt, der aus seiner Arbeit (S. 85) entnommen ist (s. S. 29, Fig. 3). Man bemerkt, daß die Kurven I bis III mit meinen parallel gehen, derart, daß eine Konzentrationssteigerung mit einer erhöhten

¹⁾ W. Ostwald, Arch. f. d. ges. Physiol. 11, 581 bis 606, 1906.

Quellung einhergeht. Von Kurve IV ab aber beginnen die Kurven unregelmäßig zu werden. Eine solche unregelmäßige Kurve bezeichnet Ostwald als "wirkliche Gestalt der Quellungskurve" und bringt sie in Übereinstimmung mit der Viscositätskurve von P. v. Schröder¹). Eine andere Tabelle, die

einen Vergleich der Quellung und Viscosität in verschieden konzentrierten Kochsalzlösungen bringt, sei ebenfalls aus Ostwalds Arbeit entnommen (s. S. 30, Fig. 4). Die obere und untere Quellungskurve sind empirisch gefunden, während die mittlere die zeitliche Interpolation der beiden darstellt. Es wäre ja interessant, wenn, wie es die Kurvenbilder zeigen, die Quellungs- und Viscositätskurve direkte Spiegelbilder wären. Aber

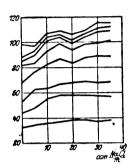


Fig. 3.

die von Ostwald mitgeteilten Versuche, die durch die obere und untere Quellungskurve versinnbildlicht werden, stimmen aber nicht im geringsten überein, so daß es ganz und gar nicht angängig ist, aus diesen beiden Versuchen eine gemeinsame Kurve zu interpolieren. Tabelle III aus der zitierten Arbeit enthält die Resultate der Quellungsversuche kleiner, trockener Gelatineplatten nach 148¹/₂ Stunden. Diese Zahlen ergeben unzweifelhaft den Zusammenhang zwischen Quellung und Konzentration, meinen Versuchen entsprechend. Da diese Versuche jedoch kein Spiegelbild zu den Ergebnissen von v. Schröder ergaben, verwendete Ostwald nunmehr Gelatineplatten, die ¹/₅ so klein waren. Mit dieser Gelatine erhielt er fast genau das Gegenteil als in seinen früheren Versuchen. Bei steigender Salzkonzentration nahm die Quellung ab (s. Tab. IV). Es sei aber hier ausdrücklich hervorgehoben, daß die Quellungszeit bei diesen Versuchen nur 3 Stunden betrug. Tabelle VII, die einen länger dauernden Versuch in verschiedenen Kaliumnitratlösungen wiedergibt, zeigt jedoch deutlich, daß sich diese Unterschiede ausgleichen und die Quellung wieder mit steigender Salzkonzentration zunimmt.

¹⁾ P. v. Schröder, Zeitschr. f. physikal. Chem. 45, 75, 1903.

Es ist aus den Ostwaldschen Versuchen die eine Tatsache interessant, daß zu Anfang die Quellung in den konzen-

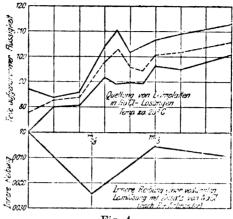


Fig. 4.

trierten Lösungen langsamer erfolgt als in verdünnten, um nach länger dauernder Quellung die von mir gefundene Gesetzmäßigkeit zu ergeben. Ich glaube aber nicht, daß es angeht, die Versuche von Ostwald mit denen von v. Schröder zu vergleichen.

Schon bei meinen Versuchen mit größeren Gelatineplatten kam es in bestimmten Lösungen vor, daß die Gelatine so schmierig wurde, daß die Trocknung schwierig war. Es blieben Teile der besonders an der Oberfläche stark gequollenen Gelatine am Filtrierpapier zurück, die nicht zur Wägung gebracht werden konnten. Solche Versuche sind bei meiner Untersuchung stets verworfen worden. Wie weit schwieriger ist es aber, dergleichen Fehler bei ganz kleinen Gelatineplatten auszuschalten!

Die von Wo. Ostwald publizierten Versuche wurden dann von Höber in seiner "Physikalischen Chemie der Zelle und der Gewebe", 3. Aufl. 1911, derart zusammengefaßt (S. 361), "daß die Veränderung der Gelatiniergeschwindigkeit bzw. Quellungsgeschwindigkeit mit der Salzkonzentration, graphisch dargestellt, einen sehr komplizierten Verlauf mit mehreren Maxima bzw. Minima zeigt —". Bei meinen Versuchen, die mit stets gleichem Material ausgeführt wurden, sind dergleichen Unregelmäßigkeiten niemals aufgetreten. Es mag dahingestellt bleiben, ob diese merkwürdige Abhängigkeit zwischen Konzentration

und Quellung, wie sie sich aus den Ostwaldschen Versuchen ergibt, auf die Kleinheit der Platten, das Arbeiten mit völlig trockener Gelatine, oder auf Versuchsfehler zurückführen läßt; jedenfalls sind diese unter den Bedingungen, wie Ostwald arbeitete, nicht zu umgehen. Meine Versuche mit teilweise gequollener Gelatine sind eher mit biologischen Quellungsvorgängen zu vergleichen, als die mit völlig trockenem Leim, weil auch die Biokolloide sich im gequollenen Zustande befinden.

Der Zusammenhang zwischen Konzentration der Lösung und Quellung der Gelatine ergibt sich folgendermaßen:

- 1. Die Quellung einer teilweise gequollenen Gelatineplatte ist von der Konzentration der Salzlösung abhängig.
- 2. Diese Abhängigkeit ist bei verschiedenen Salzen verschieden, und zwar kann man 2 Gruppen von Salzen unterscheiden. Bei der einen Gruppe von Salzen, wie sie das Natriumchlorid und Natriumrhodanid charakterisieren, erhöht sich die Quellung mit zunehmender Konzentration der Salzlösung. Bei der zweiten Gruppe von Salzen, die z. B. das Natriumsulfat repräsentiert, ist bei mittleren Konzentrationen der Salzlösung ein Optimum der Quellung zu bemerken. Einen Übergang zwischen diesen beiden Salzgruppen bildet das Natriumacetat.
- 3. Zur ersten Gruppe scheinen die Salze einbasischer, zur zweiten die Salze mehrbasischer Säuren zu gehören.
- 4. In die erste Gruppe lassen sich die Chloride der Schwermetalle nicht einreihen.

Die Quellung ist hier in verdünnten Lösungen höher als in konzentrierten. Die Quellung in Eisenchlorid hängt mit seiner hydrolytischen Dissoziation zusammen.

В.

Im Literaturteil dieses Abschnittes wurde von der Reihenfolgen-Anordnung der Anionen und Kationen bei den verschiedenen Prozessen berichtet. Nunmehr ist die Frage zu beantworten, wie sich unsere Versuche mit denen früherer Autoren in Zusammenhang bringen lassen. Während sich diese

damit begnügten, ihre Ionenreihen nach einer vergleichenden Untersuchung mit stets derselben Salzkonzentration zu bilden, schien mir dieser eine spezielle Fall als nicht geeignet genug, um allgemeingültige Ionenreihen aufzustellen.

Was die Kationen anbelangt, so scheinen sich diese freilich bis auf Lithium so zu reihen, daß die zweiwertigen mehr die Quellung fördern als die einwertigen. Bei niedrigen Konzentrationen aber gleichen sich diese Unterschiede fast vollkommen aus, womit selbstverständlich nicht gesagt sein soll, daß bei biologischen Prozessen diese Salzkonzentrationen bei den verschiedenen Salzen gleich und unwirksam sind. Es sei nur auf die Untersuchungen von Porges und Neubauer¹) am Chloresterin und Lecithin hingewiesen. Wir werden sogar bei unseren weiter unten zu beschreibenden Gelatineversuchen die Wirkungen dieser Salzkonzentrationen bei Elektrolygemischen sehen. Es ist auch oft schon genügend betont worden, daß die Kationenfolge nicht so scharf ausgeprägt sei, wie die Anionenreihe.

Für Anionen wurde fast überall die Hofmeistersche Reihe, die für die Fällung von Eiweißkörpern gilt, wiedergefunden. SCN, $J > ClO_3 > NO_3 > Cl > CH_3COO > SO_4 > Tartrat, Citrat.$

Die Anionen der rechten Seite fällen also besser als die der linken. Dieselbe Reihenfolge wurde auch für die Beeinflussung der Quellung angenommen, derart, daß Gelatine in Rhodaniden besser quillt als in Chloriden, in diesen besser als in Acetaten usw. Daß sich jedoch bei unseren Untersuchungen ein ganz strenger Zusammenhang zwischen Salzkonzentration und Quellung ergab und der interessante Schluß, daß die Salze der ersten Gruppe (Chlorid, Rhodanid usw.) in konzentrierteren Lösungen quellungsfördernder wirken als in verdünnten, während die Salze der zweiten Gruppe (Thiosulfat, Sulfat, Phosphat usw.) die Quellung gerade im entgegengesetzten Sinne beeinflussen, so war schon damit gesagt, daß sich die Anionenreihe auch mit der Konzentration ändern müsse. Auf Seite 26 ist die Anionenreihe für jede Konzentration angegeben. Für die molekulare Konzentration stimmt unsere Anionenreihe mit

¹⁾ Porges und Neubauer, Diese Zeitschr. 7, 152, 1907.

den früheren Autoren überein. Betrachten wir bloß einige Anionen, so ergeben die Untersuchungen Hofmeisters die Reihe SCN > Cl > CH₈COO > SO₄.

Meine Quellungsversuche zeigen für die $m/_1$ -Konzentration dieselbe Reihe SCN > Cl > CH, COO > SO.

Für die $\frac{m}{s}$ -Konzentration jedoch: SCN > Cl > SO₄ > CH₂COO.

Für die m/10-Konzentration:

$$SO_4 > SCN > CH_2COO > CI$$
.

Für die ^m/₁₀₀-Konzentration:

$$SO_4 > CH_8COO > SCN > CI.$$

Wir sehen also, daß sich die Reihe in verdünnten Lösungen verschiebt, um endlich in der m/100-Konzentration insofern die genau umgekehrte Reihe zu ergeben und die Salze der ersten Gruppe, die früher am Beginn der Reihe standen, nunmehr an ihr Ende gerückt sind. Die Acetation steht in der m/1-, m/10-und m/100-Konzentration in der Mitte.

Daraus ergeben sich die Schlüsse:

- Die Anionenreihe Hofmeisters ist nicht zu verallgemeinern, sie gilt was die Quellung anbelangt
 nur für konzentrierte Lösungen: Die Salze der ersten Gruppe wirken quellungsfördernder als die der zweiten.
- 2. In verdünnten Lösungen nimmt die Anionenreihe Hofmeisters genau den inversen Charakter an: Die Salze der zweiten Gruppe wirken quellungsfördernder als die der ersten.
- 3. Das Acetat steht in diesen beiden extremen Konzentrationen in der Mitte der Reihe.

Tabelle III.

Destilliertes Wasser. 1 2 Q, Q.

Biochemische Zeitschrift Band 78.

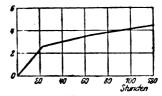


Fig. 5.

3

Tabelle IV.

NaCl.

		4	l m					3	m		
$\mathbf{St}.$	1	2	Q_1	$Q_{\mathbf{s}}$	M	St.	1	2	Q_1	$Q_{\mathbf{z}}$	M
	1,13	1,12	_	_			1,17	1,10	_	_	_
23	1,77	1,65	3,38	2,82	3,10	23	2,00	1,85	4,23	4,07	4,15
66	2.62	2,70	7,87	8,95	8.41	66	2,72	2,50	7.90	7,60	7.75
118	3,39	3,55	11,9	12,9	12,4	118	3,22	2,93	10,4	9,92	9,98
		2	2 m					1	m		
$\mathbf{St}.$	1	2	Q_{1}	Q_2	M	St.	1	2	Q_{1}	Q_{\bullet}	M
	1,18	1,10	_	_			1,08	1,17	_	_	_
23	2,07	1,95	4,50	4,61	4,56	18	1,82	1,95	4,09	3,98	4,02
66	2,57	2.41	7.03	7,10	7.07	66	2.19	2,37	6.13	6.12	6,13
118	2,87	2,67	8,54	8,52	8,53	113	2,45	2,17	7,57	7,65	7,61
			a/ ₆					200	110		
$\mathbf{St}.$	1	Z	Q_1	Q_2	M	St.	1	2	Q_1	Q_2	M
_	1,15	1,24	_	_		_	1,16	1,13		_	_
29	2,19	2,35	5,40	5,34	5,37	18	1,60	1,56	2,26	2,27	2,27
72	2,37	2,56	6,33	6,35	6.34	66	1,94	1,93	4,01	4.28	4,15
124	2.45	2.64	6.59	6.74	6.67	113	2.10	2.08	4.84	5.02	4.93

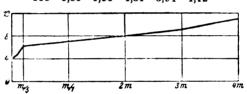


Fig. 6

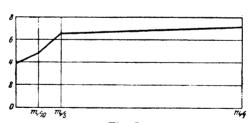


Fig. 7.

Tabelle V.

KCL.

			7.					-	18		
				$Q_{\mathbf{s}}$	M	St.	1	2	Q_1	$Q_{\mathbf{s}}$	M
	1,16	1,14		_			1,11	1,11	_		
19	1,86	1,81	3,61	3,51	3,56	19	1,62	1,64	2,74	2,85	2,80
68	2,59	2,55	7,35	7,38	7,37			2,04			
91	2,75	2,71	8,18	8,22	8,20	91	2,09	2,12	5,27	5,43	5,35

			1/10		
St.	1	2	Q_1	Q_{\bullet}	M
_	1,15	1,17			
19	1,58	1,61	2,23	2,24	2.24
68	1,95	1,97		4.08	
91	2,02	2,04		4,44	

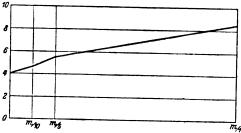


Fig. 8.

Tabelle VI.

LiCl.

Tr.: $15,96^{\circ}/_{\circ}$; $m/_{1}$		T	r.: 15.	96%:	m Q,	
St. 1 Q_1	St.	1	2	Q_1	Ž.	M
— 1,90 —	_	1,34	1,46			
17 3,69 5,91	17	2.34	2.51	4.68	4,51	4.60
64 5,95 13,3	64	2,89	3.13	7 25	7,17	7 21
112 7,44 18,2	111				9.06	

	Tr.	.: 15,9	6%:	=/			ጥተ	. 15 9/	30/ . 1	m/ ₁₀₀	
St.	1	.: 15,9 2	Q_1	ί ζ ,	M	St.	1	2	$Q_{\mathbf{q}}$	$\overset{/_{100}}{Q_{2}}$	M
_	1,59	1,50	_				1.50	1,46		- T	
48	2,79	2,71	4,73	5,05	4.89					2,96	2.78
120	3,06	2,92	5,79	5,93	5,86	120				3.52	

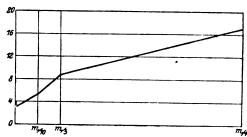
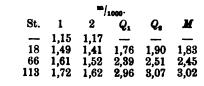


Fig. 9.

Tabelle VII.

CaCl₂.

		1	1/ ₅					m	10		
St.		2	Q_1	$Q_{\mathbf{s}}$	M	St.	1	2	Q_1	Q_{2}	М
_	1,16	1,16		_			1,16	1.15			
29	1,85	1,85	3,55	3,55	3,55	18	1.78	1,78	3.19	3.27	3,23
73	2,39	2,38	6,33	6,27	6,30		2.11	2.08		4.83	4,86
96	2,58	2,51	7,04	6,94	6,99		2,33	2,28		5,86	5,94
									3	*	



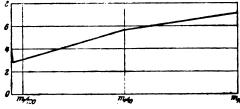


Fig. 10.

Tabelle VIII.

BaCl₂ (Trockengewicht 15,96°/₀).

		-	5				- /10			
$\mathbf{St}.$	1	2	Q_1	Q,	M	8t.	1	Q_1		
-	1,32	1,39	-		_	_	1,47	_		
24	2,81	2,99	7,07	7,21	7,14	24	2,82	5.76		
72	3,23	8,42	9,07	9,15	9.11	72		7,50		
119	3,30	8,55	9,40		9,57	120	3,58			

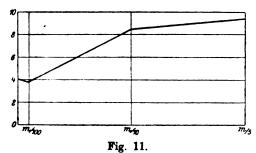


Tabelle IX.

-	r_4	•	
411	124	н	L.

	- /1				•	^a / ₅		
St.	1	Q_1	St.	1	2	Q_1	Q_{1}	M
	1,16	_		1,11	1.15			_
22	2,42	6,4 8	23	2,08	2,22	5,22	5,55	5.34
72		10,6	65	2,68	2,72	8,01	8,14	
116	3,34	11,2						9,40

		=	1/10					≔ /,	100		
St.	1	2	Q_1	$Q_{\mathbf{s}}$	M	St.	1	2	Q_1	Q_2	M
_	1,11	1,10	_	_	_		1,02	1,02			
18	1,72	1,68	3,2 8	3,15	3,22	2 8	1,61	1,61	3,45	3,45	3,45
66	1,98	1,93	4,68	4,50	4,59	6 8	1,70	1,70	3,98	3,98	3,98
118	2,15	2,11	5,59	5,48	5,54	123	1,72	1,73	4,00	4,15	4,08

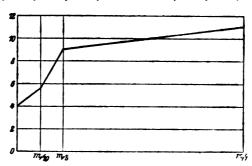


Fig. 12.

Tabelle X.

MnCl₂ (Trockengewicht 15,96°/_o). St. 1 2 Q_2 M St. 1 Q, M 0,81 0,90 1,35 1,37 3,36 9,38 9,11 4,25 13,3 13,2 1,45 1,77 1,56 1,93 23 8,37 9,25 15 4,95 4,60 4,78 72 4,21 13,25 63 7,42 7,17 7,30 4,35 4,39 13,9 14,1 2,05 2,21 109 14,5 112 9,59 9,12 9,36 m/₁₀₀ Q_{2} 2 Q_{s} St. 1 2 M St. 1 Q_1 M 0,84 0,77 0,80 1,04 8,95 4,89 2,82 2.53 15 1,37 1,31 4,67 15 1,16 1,45 2,68 1,68 1,79 1,55 1,72 5,91 7,09 6,35 7,73 64 112 1,28 1,62 3,76 8,58 6,18 63 3,67

7,41

1,83

111

1,68

4,15

8,95

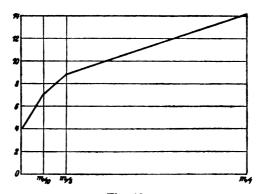


Fig. 13.

Tabelle XI.

				ROM.	_			
St.	1 10	Q	St.	1	2	$\overset{_{1000}}{Q_{1}}$	$Q_{\mathbf{s}}$	M
_	1,13	_	_	1,17	1,17		_	
19	1,27	0,74	19	1,45	1,46	1,43	1,48	1,46
68	1,42	1,53	6 8		1,56			1,94
91	1,45	1,69	91				2,19	

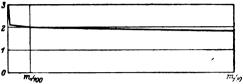
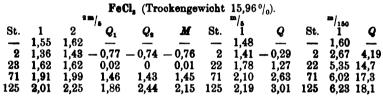


Fig. 14.

Tabelle XII.



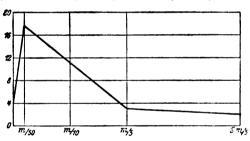


Fig. 15.

Tabelle XIII. Übersicht über die Gelatinequellung nach 100 Stunden.

	m / ₁	=/2	m / ₅	PD/10	m/ ₁₀₀	m/ ₁₀₀₀
NaCl	7,1	ca. 6,7	6,5	4,7	3,9	_
KCl	8,4	ca. 6,6	5,5	4,6	<u> </u>	
LiCl	17,0		8,6	5,4	3,2	_
CaCl,	Ó	_	7,1	5,7	ca. 3.1	2,9
BaCl	∞		9,4	8 ,4	3,8	_
MgCl	11,0	ca. 9,7	9,0	5,3	4,1	
MnCl	14,2	ca. 10,8	8,8	7,0	4,0	
HgCl		— ′	<u> </u>	1,8	2,0	2,1
FeCl		_	2.8	ca. 12,0	ca. 19,0	
• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •		Dest		Wasser	4,1	

Tabelle XIV.

NaSCN.

	- / ₂			m / ₅								
	1	$oldsymbol{Q}$	St.	1	2	Q_1	$Q_{\mathbf{s}}$	M				
	1,14			1,11	1,17							
24	3,00	9,73	24	2,22	2,32	5,97	5.87	5.92				
66	4,07	15,3	66	2,55	2,68	7.74	7.70	7.72				
137	4,65	18,3	137	2 ,72	2,86	8,65	8,62	8,64				

m/ ₁₀						m / ₁₀₀						
St.	1	2	Q_{1}	$Q_{\mathbf{z}}$	M	St.	1	2		Q,	M	
-	1,10	1,14		_	_		1.10	1,16	_		_	
24	1,87	1,97	4,18	4,34	4,26			1,67			2.63	
66	2,18	2,25	5,86	5,81	5,84			1,94				
137	2,30	2,31	6,51	6,49	6,50	137	1,96	2,02	4,66	4,42	4,53	

m/ ₁₀₀₀												
St.	1	2	Q_1	$Q_{\mathbf{z}}$	M							
_	1,11	1,18	_	_								
24	1,59	1,78	2,58	3,03	2,84							
66	1,84	1,94	3,92	3.84	3,88							
137	1,93	2,11	4,41	4,70	4,56							

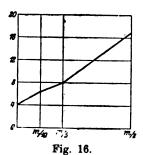


Tabelle XV.

Benzoesaures Natrium.

** / ₁₀						m / ₁₀₀₀					
St.	1	2	$Q_{\scriptscriptstyle 1}$	Q_{\bullet}	M	St.	1	2	Q_1	Q_{1}	M
_	1,15	1,16	_	_	_	_	1.15	1,13	_	_	_
24	2,08	2,11	4,83	4,88	4,86			1,70		3.01	3.01
66	2,39	2,42	6,43	6,48	6,46			1,91			
137	2,55	2,57	7,26	7,25	7,26	137	2,07	2,08	4,77	5,05	4,91

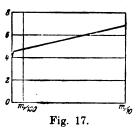


Tabelle XVI.

Mg804.

		*	1/1			m/ ₂					
St.	1	2	Q_1	$Q_{\mathbf{z}}$	M	St.	1	2	Q_1	$Q_{\mathbf{s}}$	M
	1,14	1,15	_			_	1,17	1,12		_	
23	1,47	1,36	1,73	1,09	1,41	23	1,94	1,83	3,93	3,68	3,81
66	1,78	1,79	3,35	3,32	3,34	65	2,33	2,21	5,92	5,81	5,87
114	1,92	1,93	4,08	4,05	4,07	114	2,50	2,37	6,78	6,66	6,72
			1/5					m	10		
St.	1			^	16	G,				_	16
ы.	1	2	Q_1	$Q_{\mathbf{z}}$	M	St.	1	2	Q_1	Q_{2}	M
_	1,17	1,18	_				1,12	1,17		_	
23	2,05	1,82	4,49	3,64	4,07	23	2,05	1,97	4,96	4,08	4,52
65	2,46	2,37	6,58	6,55	6,57	65	2,40	2,46	6,82	6,58	6,70
114	2,66	2,57	7,60	7,61	7,61	114	2,56	2,65	7,67	7,55	7,61
		- /:	100					- /	1000		
St.	1	2	Q_1	Q_2	M	St.	1	2	Q_1	$Q_{\mathbf{z}}$	M
_	1,14	1,10	_	_		_	1,15	1,10			_
23	1,87	1,82	3,82	3,90	3,86	23	1,84	1,74	3,58	3,47	3,53
65	2,17	2,09	4,87	5,37	5,12	65	2,17	2,05	5,29	5.15	5,22
114	2,32	2,22	6,18	6,07	6,13	114	2,32	2,19	6,07	5,91	5,99
		1-				· • • • • • • • • • • • • • • • • • • •					
		1		_	_	1			- 1		

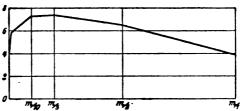


Fig. 18.

Tabelle XVII.

Na₂SO₄.

						-					
		*	1/1			™/ g					
St.	1 1,12	2 1,11	$\frac{Q_1}{-}$	$\frac{Q_2}{-}$	<u>M</u>	St.	1 1,19	2 1,11	$\frac{Q_1}{-}$	Q.	M
29	1,07		-0,27	0,10		29	1,95	1,83	3,81	3,87	3,84
72	1,13	1,19	0,05	0,43		72	2,10	1,94	4,56	4,46	4,51
124	1,14	1,20	0,10	0,48	0,29	124	2,14	2,01	4,76	4,84	4,80
		=	1/5					=	10		
St.	1	2	Q_1	Q_2	M	St.	1	2	Q_1	Q_2	M
-	1,11	1,15		-	_		1,13	1,14		_	
29	2,08	2,16	5,21	5,24	5,23	29	2,14	2,16	5,41	5,34	5,38
72	2,24	2,33	6,07	6,12	6,10	72	2,30	2,35	6,27	6,33	6,30
124	2,29	2,39	6,34	6,43	6 ,39	124	2,36	2,45	6,59	6,86	6,73

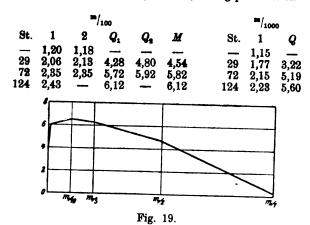


Tabelle XVIII.

			NaH ₂ PO ₄ .										
	=/1			m / ₆									
St.	1	$oldsymbol{Q}$	St.	1	2	Q_1	Q_{\bullet}	M					
	1,07	-		1,06	1.12	_		_					
19		0,06	19	1,86	1,88	4.50	4,05	4,28					
67	1,12	0,28	67	2,17	2,28	6.25	5,91	6,08					
115	1,16	0,50	115	2,30	2,38	6,98	6,71	6,85					

- /10						= / ₁₀₀					
St.	1	2	Q_{1}	Q_{2}	M	St.	1	2	Q_1	Q_{\bullet}	M
_	1,07	1,07	_		_	_	1.06	1,01		_	
	1,77	1,72	3,90	3,63	3.77	19	1.76	1,72	3.94	4 28	4.61
67	2,11	2,10	5,50	5,74	5,77	67	2,05	2.00	5,57	5 85	5 71
115	2,27	2,25			6,64	115		2.12	6.53	6.56	6.55

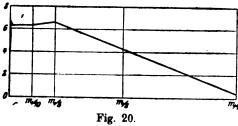


Tabelle XIX.

Na,HPO.

	- /1						 /₽					
St.	1	2	$Q_{\scriptscriptstyle 1}$	Q_2	M	St.	1	2	Q_{i}	Q_{\bullet}	M	
	1,06	1,11		_		_	1,01	1,13		_		
18	1,62	1,56	3,15	3,25	3,20	18	1,92	2,11	5,37	5,17	5,27	
66	1,87	1,80	4,56	4,67	4,62	66	2,31	2,52	7,68	7,34	7,51	
114	2,02	1,91	5,40	5,32	5,36	114	2,47	2,75	8,57	8,55	8,56	
		-	10						/100			
St.	1	2	Q_1	Q_{s}	M	St.	1	2	Q_1	$Q_{\mathbf{s}}$	M	
_	1.12	1.10	_	_			1,08	1.09	_		_	
18	2,16	2,18	5,54	5,85	5,76	18	2,28	2,25	6,83	6,35	6,49	
66	2,67	2,69	8,26	8,62	8,44	66	3,00	2,97	10,6	10,3	10,5	
114	2.84	2.86	9,16	9.55	9.36	114	8.28	3.27	12.1	12.0	12.1	

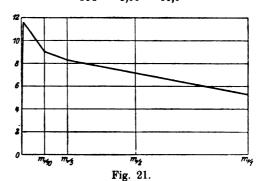


Tabelle XX.

Na₂S₂O₃.

= / ₁						-	m/ ₁₀					
St.	1	2	Q_1	$Q_{\mathbf{z}}$	M	St.	1	2	$Q_{\scriptscriptstyle 1}$	$Q_{\mathbf{z}}$	M	
_	1,15	1,15		_	_	_	1,10	1,15		_	_	
17	1,36	1,32	1,09	0,88	0,99	17	1,65	1,69	2 ,98	2,80	2,89	
66		1,72						2.18				
8 8	1,82	1,79	3,48	3,32	3,40	88	2,22	2,26	6,07	5,76	5,92	

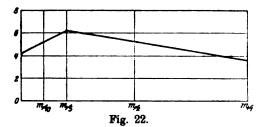


Tabelle XXI.

					MERLI	TIME	01 8 1-					
		***	1/1							P/s _		
St.	1	Z	Q_1	Q_{\bullet}	M		St.	1	2	Q_1	$Q_{\mathbf{z}}$	M
_	1,07	1,05	_		_		-	1,10	1,16	_	_	_
19	1,64	1,67	3,18	3,52	3,35		19	1,84	1,92	4,01	3,91	3,96
67	1,89	1,90	4,58	4.83	4,71		67	2,08	2,17	5,44	5,19	5,32
97	1,94	1,94	4,85	5,06	4,96		97	2,15	2,24	5,70	5,55	5,63
			1/5						8	1/10		
St.	1	2	Q_1	Q_{\bullet}	M		St.	1	2	Q_1	Q_{\bullet}	M
_	1,15	1,11		_	_		_	1,16	1,16	_	_	_
19	1,85	1,82	3,63	3,82	3,73		19	1,94	1,93	4,01	3,96	3,99
67	2,13	2,18	5,09	5,49	5,29		67	2,16	2,14	5,14	5,04	5,09
97	2,32	2.18	6.07	5,75	5,91		97	2,20	2 20	5 85	5,85	5,85
		2	/ ₁₀₀ Q ₁						=	1000 Q ₁		
St.	1	2	```Q,	$Q_{\mathbf{z}}$	M		St.	1	2 '	Q_1	Q_{\bullet}	M
_	1,18	1,14	_	_			_	1,13	1,11	_	-	-
19	1,75	1,70	2,88	2,98	2,91		19	1,66	1,62	2,80	2,30	2,55
67	2,01	1,92	4,20	4,08	4,14		67	1,75	1,76	3,27	3,01	3,14
97	2,06	2,08	4,45	4,66	4,56		97	1,88	1,88	8,96	3,62	8,79
		6		_						 -		
		<u>_</u>	_							\dashv		
		# -	-+-			\dashv						
				l						l		
		8										
		ار	L	_L								
			m/10	<i>m</i> ₃		my				m _{rf}		

Tabelle XXII.

Übersicht über die Gelatinequellung nach 100 Stunden.

Fig. 23.

	= /1	m/,	™/ ₅	m / ₁₀	m/ ₁₀₀	m/ ₁₀₀₀
NaSCN	00	16,8	8,2	6,2	4,3	4,2
Benzoesaures Na	∞	<u> </u>	_	6,8	ca. 5	4,5
MgSO4	3,8	6,4	7.4	7,3	5,8	5,8
Na.SO.	0,2	4,7	6,3	6,5	6,0	5,4
NaH.PO	0,4	<u> </u>	6,6	6,3	6,3	6,7
Na HPO	5,2	ca. 7.1	8,3	9,1	11,6	9,5
Na S.O.	3,6	ca. 5,0	5,9	6,2	4,5	4,3
Na-Acetat	5,1	5,6	6,0	5,3	4,7	3,8
	- ,-			Wasser 4		- , -

Versuche mit Bohnen.

Die Literatur über die Einwirkung einzelner Salze auf Pflanzen ist ungeheuer umfangreich und wurde bis zum Jahre 1904 von Friedrich Czapek in seiner Biochemie der Pflanzen zusammengestellt (2, 843 bis 868). Eine kurze Übersicht über kolloidehemische Protoplasmastudien aus der Pflanzenphysiologie der beiden letzten Jahre lieferte Ruhland¹); zu erwähnen wäre nur noch eine Arbeit von Martin Schlips²), in der die Contraction der Faserzellenmembranen und ihrer Lösung in wasserentziehenden Mitteln auf einen Quellungsvorgang zurückgeführt werden konnte.

Bei der Verschiedenheit der Versuchsobjekte zwischen den Membranen der Antherenfaserzellen und meinen (Gelatine) dürfen die Versuchsergebnisse selbstverständlich nicht identifiziert werden; aber eine Analogie ist unverkennbar.

Ich habe versucht, das Quellungsvermögen der Samen von Phaseolus vulgaris dadurch zu bestimmen, daß ich sie in dieselben Lösungen der Salze legte, wie die Gelatineplatten. Bei den einzelnen Parallelversuchen ergeben sich bei diesem Versuchsobjekte außerordentlich große Unregelmäßigkeiten. Daß sich Differenzen bei verschieden großen Bohnen ergeben mußten, war ja von Anfang an zu erwarten, da Spiro auf die Form und Konzentration der Gelatine ein besonderes Gewicht legt. Aber selbst wenn man gleichgroße und gleichschwere Bohnen zu Parallelversuchen benutzt, ist in den meisten Fällen oft schon rein äußerlich zu erkennen, daß große Gewichtsdifferenzen bestehen müssen.

Die erste Frage, die vielleicht zur Erklärung beantwortet werden mußte, war die, ob vielleicht die Bohne, die eine große Flüssigkeitsaufnahme zeigte, nicht früher keimte als die, bei der die Flüssigkeitsaufnahme gering war, oder umgekehrt. Aber auch bei Keimungsversuchen beobachtete ich keine Unterschiede.

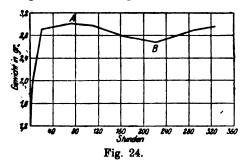
Aus diesem Grunde ist es außerordentlich schwierig, mit diesem Material systematische Versuche anzustellen. Die Differenzen, die sich in verschiedenen Salzkonzentrationen ergeben, sind untereinander so gering, daß es fast den Anschein hat,

¹⁾ W. Ruhland, Kolloidzeitschr. 12, 113, Heft 3, 1913.

²) M. Schlips, Beihefte zum Botan. Centralbl. 31, Abt. I, Heft 2, 1913. Frühere Arbeiten auf diesem Gebiet J. Schrodt, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 15, 29, 1897; E. Hannig, Jahrb. f. wiss. Botan. 47, 186, 1910; C. Steinbrinck, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 28, 549, 1910; 29, 334, 1911.

als ob dieses Material gegen Konzentrationsunterschiede unempfindlich wäre. Es würde selbstverständlich viel zu weit gehen, alle oder wenigstens einen großen Teil der Versuche anzuführen, wie es bei den Gelatineversuchen geschah, weil sie ganz und gar nicht charakteristisch sind und fast stets den gleichen Verlauf nehmen.

Eins haben aber alle diese Versuche ergeben, und ich glaube, daß es interessant und wichtig genug ist, hier darauf näher einzugehen. Die Quellungsvorgänge bei der Gelatine verlaufen so, daß die Gelatine zu Anfang des Versuches viel und allmählich immer weniger Wasser aufnimmt, kurz, daß die Kurve, bei der Zeit und Wasseraufnahme Variable sind, eine logarithmische ist. Bei der Wasseraufnahme von organisierten tierischen Kolloiden nimmt die der Gelatine entsprechende Kurve schon einen komplizierteren Verlauf, derart, daß ein frischer Muskel zuerst Wasser aufnimmt, um es dann wieder abzugeben, ein Prozeß, der mit einer allmählichen Ausflockung der Eiweißstoffe in Zusammenhang gebracht werden kann¹). Die Wasseraufnahme einer Bohne ist noch weit komplizierter als bei den Fleischproben. Wurden die Versuche genügend lange fortgesetzt, so erhielt ich folgende Kurve (Fig. 24).



Bei Durchsuchung der umfangreichen Literatur über das Wasseraufnahmevermögen von Samen) fand ich eine Monographie des Jenser

¹⁾ v. Fürth und E. Lenk, diese Zeitschr. 38, 341, 1911; Wiener klin. Wochenschr. 24, Nr. 30, 1911; Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel 24, 189, 1912.

²) Literatur über die Quellung von Samen: W. Detmer, Pysiologie des Keimungsprozesses, Jena 1880 (Botan. Centralbl. 1880, 10 bis 80); Nobbe, Samenkunde, 1876, 100; Reinke, Untersuchungen aus dem botan. Laborat. in Göttingen, 1881, Heft 2, S. 54; Schindler, Wollnys

Botanikers Detmer "Physiologie des Keimungsprozesses". Detmer, der zahlreiche Beobachtungen über die Quellung von Samen machte, meint, daß dabei ziemlich viel Vorgänge einhergehen. Vor allen Dingen sind es Imbibitionsprozesse, die die Wasseraufnahme von Samen herbeiführen; daneben wird die Quellung — Detmer nennt Quellung den Gesamterfolg, der sich bei der Imbibition herausstellt — durch osmotische Vorgänge vermittelt, und in speziellen Fällen kommen überdies noch Capillarvorgänge und Permixtionsprozesse in Betracht.

In der Regel werden diese "Quellungsvorgänge" durch Imbibitionsvorgänge eingeleitet. Das Wasser breitet sich immer weiter in das Innere der Zellen aus, wodurch das Zustandekommen von osmotischen Vorgängen gegeben ist. Die Zellen turgeszieren infolgedessen, was zur Entstehung von Spannungs- und Druckverhältnissen Veranlassung gibt. Dabei geben auch diese Samen verschiedene Stoffe aus Quellungsmedium ab.

Es ist beachtenswert, daß die Samen von Papilionaceen besonders große Wassermengen zu absorbieren vermögen, während fettreiche Samen, sowie die Früchte von Gramineen weit geringere Flüssigkeitsmengen aufnehmen. Die Samen quellen nicht gleichzeitig; so können sie tage-, ja wochen- und monatelang in Wasser ruhen, ohne dasselbe aufzunehmen. Die Ursache ist in der Testa zu suchen; nach Verletzen der Samenschale wird dann sehr leicht Flüssigkeit aufgenommen.

Es sei mir gestattet, einen markanten Versuch der Monographie von Detmer zu entnehmen, weil derselbe im Grundprinzip mit meinen

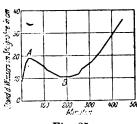


Fig. 25.

Versuchen übereinstimmt. 300 g weiße Riesenerbsen wurden in einen 600 ccm fassenden weithalsigen Kolben gegeben, worauf der Kolben bis zum Rande mit Flüssigkeit gefüllt wurde. Die Mündung des Kolbens wurde mit einem zweifach durchbohrten Kautschukpfropfen verschlossen, in dessen einer Öffnung sich ein Thermometer und in der anderen eine ¹/_g ccm breite Steigröhre befand. Der Stand des Wassers im Steigrohre war am Beginn

des Versuches 8,5 cm. Den Versuch Det mer bringe ich in Kurvenform Fig. 25.

Ich habe den Versuch von Detmer öfters wiederholt, nur mit dem Unterschiede, daß ich 100 g kleine Bohnen in einen 250 ccm fassenden Kolben füllte und den Vorgang durch ca. 60 Stunden beobachtete. Der Versuch sei in Zahlen und Kurven-

Forschungen auf d. Gebiete d. Agrikulturphysik, 4, 194, 1881; Schmid, Versuchsstat. 36, 243, 1889; Régnard, Compt. rend. Soc. Biol. 1899, 252; Gréhaut, ebenda, 1889, 230; Bogdanoff, Versuchsstat. 42, 30, 1893; Gain, Bullet de le Soc. bot. de France, 41, 490, 1894.

form wiedergegeben. Es muß noch erwähnt werden, daß zu Anfang das Auftreten von Luftblasen vermieden wurde (Fig. 26).

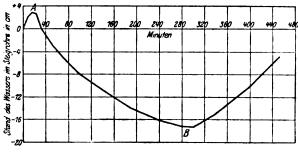


Fig. 26.

Dieser Versuch, der mehrmals wiederholt wurde, stimmt allerdings nicht sonderlich mit dem von Detmer überein. Die Kurvenform ist aber ziemlich gleich.

Man sieht aus meinen Versuchen, daß das Wasser im Steigrohre zuerst steigt, dann allmählich fällt, um dann wieder zu steigen.

Detmer erklärt das Steigen, Sinken und abermalige Steigen im Steigrohre ungefähr folgendermaßen: Werden unversehrte Bohnen mit Wasser übergossen, so tritt eine deutliche Faltung der Samenschale hervor. Unter den Falten entstehen mit verdünnter Luft erfüllte Hohlräume, indem sich die Testa von den Kotyledonen abhebt. Die rapide Volumzunahme der Erbsen wird auf diese Weise verständlich, weil das Wasser von den Zellen der Testa aufgenommen wird. Ihre Zellen turgeszieren dann. Die auf diese Weise in den Zellen hervorgerufenen Druckkräfte pressen einen Teil der Flüssigkeit in die zwischen der Samenschale und den Kotyledonen gebildeten Hohlräume und diese füllen sich infolgedessen mit Wasser. Dieser Vorgang soll dann eine Abnahme des Gesamtvolumens der Erbsen und des Wassers, resp. ein Sinken des Wassers im Steigrohr zur Folge haben. Der abermalige Aufstieg soll dadurch hervorgerufen werden, daß sich die Zellmassen voneinander abheben. die Zwischenräume erweitert werden und dadurch das Gesamtvolumen der Samen erhöht wird,

Meiner Ansicht nach stimmt diese Erklärung mit den Tatsachen gar nicht überein. Der erste geringe Anstieg des Wassers im Steigrohre kommt sicherlich rein mechanisch dadurch zustande, daß sich die Testa vom Kotyledon abhebt und die einzelne Bohne dadurch an Volumen zunimmt. Nun nehmen die Bohnen Wasser auf und die bei dieser Quellung zutage tretende

Contraction veranlaßt ein Sinken des Wassers im Steigrohre. Dieser ganze Vorgang, also sowohl der Aufstieg als auch der Abfall des Wassers im Steigrohre, geht mit einer Gewichtszunahme der Bohnen bzw. Erbsen einher; es entspricht also der Teil der Kurve Fig. 25 bis B dem Teil der Kurve Fig. 24 bis A.

Das weitere Steigen des Wassers im Steigrohre geht, mit meinen gewichtsanalytischen Versuchen verglichen, mit einer Flüssigkeitsabgabe von seiten der Bohnen einher. Zum Schluß des Steigversuches schnellt gleichsam das Wasser im Glasrohre in die Höhe. Man beobachtet auch zu dieser Zeit, daß sich kleine Gasbläschen entwickeln, die sich allmählich vermehren, die offenbar durch bakterielle Zersetzungen hervorgerufen werden. Das schnelle Ansteigen des Wassers im Steigrohre zum Schluß des Versuches kommt dann dadurch zustande, daß sich die Kohlensäure in der Flasche unterhalb des Kautschukpfropfens ansammelt, nicht zum Steigrohre entweichen kann und dadurch das Wasser emportreibt. Die Flüssigkeit riecht dann deutlich nach Buttersäure.

Es ist ohne Zweifel, daß diese Steigversuche mit meinen gewichtsanalytischen, wenn nicht zu identifizieren, so doch zu vergleichen sind.

Um nun die Umkehrpunkte der Quellungskurve der Samen näher zu charakterisieren, habe ich parallel mit den gewichtsanalytischen auch Keimungsversuche angestellt. Diese Untersuchung wurde mit 35 Bohnen, deren Keimfähigkeit 100% betrug, derart vorgenommen, daß das Gewicht jeder einzelnen Bohne bestimmt wurde. Sodann wurde jede Bohne in ein mit n/10 Lithiumchloridlösung gefülltes Gläschen gegeben. Von Zeit zu Zeit wurde das Gewicht der einzelnen Bohnen bestimmt und zugleich mit je 5 früher bereits gewogenen Bohnen Keimungsversuche angestellt. Es ergab sich nun das überaus interessante, aber bei näherer Überlegung gar nicht sehr merkwürdige Resultat, daß die Bohnen, während sie noch an Gewicht zunahmen, sich also auf dem aufsteigenden Ast ihrer Quellungskurve (Fig. 24) bewegten, keimfähig waren, daß sie aber nicht mehr keimten, sobald sie den Maximalpunkt der Quellungskurve überschritten, also an Gewicht abnahmen. Man könnte also gleichsam

den Punkt A der Kurve "als Todespunkt" der Bohne bezeichnen (Fig. 24).

Diese Beobachtungen zwingen uns, auf die Parallelität der Vorgänge beim Absterben tierischer und pflanzlicher Gewebe aufmerksam zu machen. Denn beide Arten von Geweben können wir noch so lange als lebend bezeichnen, als sie in ihrem Quellungsmedium (Wasser) an Gewicht zunehmen; sobald sie aber ihr Quellungswasser wieder abgeben, ist eine Wiederherstellung der normalen Eigenschaften der Gewebe unmöglich. Ob allerdings die Vorgänge, die beim Absterben der pflanzlichen und tierischen Gewebe vor sich gehen, gleiche Ursachen haben oder nicht, ist vorläufig aus Mangel an Versuchen in dieser Richtung nicht zu entscheiden. Jedenfalls gedenke ich in kurzer Zeit, mich mit dieser Frage näher zu befassen.

Versuche mit Fischen.

Im Vorwort dieses Teiles ist die Versuchsanordnung bei Verwendung von Fischen als Untersuchungsmaterial erläutert und angegeben, daß als "Lebensdauer" die Zeit angenommen wurde, wann in dem einzelnen Aquarium über die Hälfte der Fische starben. Als Eintritt des Todes galt stets Aussetzung der Atmung und die letzte Körperzuckung.

Im folgenden seien Versuche bei Verwendung von Natrium-(S. 51, Tab. XXIII), Kalium- (S. 52, Tab. XXIV, Fig. 27), Calcium-(S. 52, Tab. XXV) und Magnesiumchlorid (S. 53, Tab. XXVI, Fig. 28) in den Konzentrationen m_{5} , m_{10} , m_{20} , m_{50} und m_{100} als Außenmedium angegeben, ferner von Bariumchlorid (S. 53, Tab. XXVII, Fig. 29) und Manganchlorür (S. 54, Tab. XXVIII) in den Konzentrationen $m/_{10}$, $m/_{20}$, $m/_{50}$ und $m/_{100}$; bei den beiden letzten Salzen erwiesen sich die m/5-Lösungen bereits als so giftig, daß die Fische darin nach einigen Sekunden starben. Schließlich seien noch Versuche mit Eisenchlorid (S. 54, Tab. XXIX, Fig. 30) in den Konzentrationen m/50, m/100 und m/500 und Quecksilberchlorid (S. 55, Tab. XXXIV) in der m/1000-Konzentration erwähnt. In allen Tabellen bedeutet F. = Fisch, v.d.G. = verliert das Gleichgewicht, St. = Stunden und Min. = Minuten. Als unendlich lange Lebensdauer wurde meistens die Zeit Biochemische Zeitschrift Band 78.

angenommen, wenn die Fische über 3 Tage in den betreffenden Lösungen lebten.

Es sei nur noch bemerkt, daß in den hier angegebenen Tabellen nicht alle Beobachtungszeiten notiert sind, da die Protokolle sonst sehr umfangreich geworden wären. In den meisten Fällen wurden die Fische Tag und Nacht beobachtet, was selbstverständlich nur mit Mithilfe geschehen konnte.

Bringen wir wieder, wie es bei den Gelatineversuchen geschehen ist, die Kationen in Reihen, so ergeben sich für die m/s-Konzentration die Reihenfolge:

Ba,
$$Mn > Mg > K$$
, Ca $> Na$;

für die m/10-Konzentration die Reihenfolge:

für die m/20-Konzentration die Reihenfolge:

für die m/50-Konzentration die Reihenfolge:

für die $m/_{100}$ -Konzentration die Reihenfolge:

$$Ba > Mn > Mg$$
, K, Na, Ca.

Vergleichen wir diese Kationenreihen mit unseren Reihen, die sich bei Verwendung von Gelatine als Untersuchungsmaterial ergaben, so ist die beiläufige Übereinstimmung sehr auffallend. Es hat auf den ersten Blick den Anschein, als ob zwischen Quellung und Lebensdauer irgendein Zusammenhang bestünde und als ob die Salzlösung, in der bei der Gelatine eine starke Quellung beobachtet wurde, auch die Lebensdauer der Fische stark herabsetzte und umgekehrt. Besonders das Calciumchlorid ist für die beiden Arten von Versuchen sehr beachtenswert. Schon bei Besprechung der Gelatineversuche konnte mitgeteilt werden, daß die Leimplatte in der m/,-Chlorcalciumlösung so stark aufquoll, daß sie zerfloß und die Quellung in den geringen Konzentrationen plötzlich sehr klein wurde. Dasselbe kann man auch bei den Fischversuchen beobachten. Bei keinem der verwendeten Salze ist weder bei den Gelatine- noch bei den Fischversuchen ein solch jäher Abfall beobachtet worden und diese Beobachtungen sind für die Theorie der Neutralsalzwirkung sicher von Bedeutung. Daß die Giftigkeit des Kaliumchlorids größer ist als sie der Quellung

gemäß sein sollte, ist offenbar dadurch zu erklären, daß das Kaliumion ein exzessives Herzgift ist.

Ganz eigenartig ist es, daß die zu diesen Versuchen verwendeten Fische im destillierten Wasser sogar mehrere Wochen leben. Mir erschien diese Tatsache stets so wunderlich, daß ich sie immer und immer wieder wiederholte, um mich von ihrer Richtigkeit zu überzeugen. Auch die Verwendung doppelt und dreifach destillierten Wassers änderte nichts an den Versuchen. Die Fische befanden sich, trotzdem sie nicht gefüttert wurden, überaus wohl, und nur im ersten Moment schien es mir manchmal, als ob sie etwas unruhiger wurden, was sich jedoch nach wenigen Minuten legte.

Aus diesen Versuchen ergab sich die Möglichkeit, die Exkretion der Fische durch jeweilige Bestimmung des elektrischen Leitvermögens der Lösung zu verfolgen, was ich auch in mehreren Fällen durchführte. Die Besprechung der Versuche behalte ich mir einer späteren Zeit vor.

Dieses merkwürdige Verhalten der Fische im destillierten Wasser ist schon bei früheren Gelegenheiten von zwei Autoren beobachtet worden. So fand Jaques Loeb, daß $50-100^{\circ}/_{0}$ frisch befruchteter Eier vom marinen Fisch fundulus heteroclitus im destillierten Wasser Embryonen bilden, daß dies aber in einer $^{8}/_{8}$ m-Kochsalzlösung nur bis höchstens $5^{\circ}/_{0}$ möglich ist. Auch für marine Pflanzen (Lyngbya aestuarii, eine Cyanophycee, Enteromorpha Hopkirkii, eine Alge und Ruppia maritima, eine Blütenpflanze) ist nach Osterhout destilliertes Wasser außerordentlich wenig giftig.

Zum Schlusse (Versuche S. 55—57, Tab. XXXI a u. b) seien hier noch die erwähnten Wägungsversuche, z. B. in Lithiumchlorid, zu besprechen, deren Resultate gleichsam ein Resumé der von v. Fürth und E. Lenk¹) aufgestellten Theorien darstellen.

Tabelle XXIII.

NaCL.

¹⁾ v. Fürth und E. Lenk l. c.

$m{T}$	™ /6	$m{T}$	m/10	T	m /	$m{r}$	m/50
21. IX. 900	alle †						
Lebensdauer	9 St.		∞		∞		∞
20. IX. 241	_	30. VIII. 1018		7. XI. 1155		5. IX. 1235	_
815	1 †	31. n 1000		8. n 1206	_	6. n 600	1 +
1114	3†	2. IX. 5 ²⁰		10. n 980	_	8. n 9 ¹⁵	
1135	4†					9. n 9*0	_
21. » 9 ⁰⁰	alle†						
Lebensdauer			∞		∞		∞
Mittel	9 St.		∞		∞		∞

Tabelle XXIV.

KCL. \boldsymbol{T} \boldsymbol{T} \boldsymbol{T} T 20. IX. 246 7. IX. 11⁵⁸ 7. IX. 1156 5. IX. 120a 5. IX. 1000 580 700 3 + 1 † 2 † 3 † 7. **"**9. " 388 1 † 580 799 7. " 346 8. , 1000 1200 980 4 † alle † 406 1216 alle † 980 9. " 980 alle † Lebensdauer 1 St. 51/2 St. 24 St. 1167 7. n 1158 7. n 1010 20. IX. 246 5. n 530 980 382 3+ 5*0 1 + 340 4+ 1200 1100 alle † 2+ 354 600 3 + 910 348 alle † 980 alle † 5¹/₉ St. 5¹/₉ St. Lebensdauer 1 St. 30 St. ∞ ∞ Mittel 1 St. 27 St. ∞ ∞

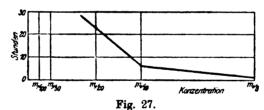


Tabelle XXV.

CaCl.

1

Tabelle XXVI.

MgCl. \boldsymbol{T} Tm/ /10 .2** — 14. IX. 2** — 14. IX. 2** — 8.00 3 v.d.G. 16. "11** — 20. "11** — 14. IX. 2** 14. IX. 319 14. IX. 225 **R**19 3 v.d.G. 314 3 v. d. G. 326 3*0 1 + 2 † 380 1 † 1000 1 † 385 345 15. " 900 4+ 3 + 3 + 20. , 1100 -408 340 1180 alle † 4+ 4 + 409 16. n 880 alle † 1200 alle † Lebensdauer 23 Min. 11/2 St. 19 St. 14. n 226 200 - 14. " 217 -14. IX. 318 14. " 224 _ 14. " 319 allev.d.G. 630 3. v.d.G. 20. n 1100 - 20. n 1100 314 allev.d.G. 325 380 1000 4 † 2 † 2† 384 345 3 + 15. , 800 4+ alle † 355 4 † 230 alle † 405 alle † Lebensdauer 12 Min. $\frac{1^{1}/_{2}}{1^{1}/_{2}}$ St. $1^{1}/_{2}$ St. 18 St. ∞ ∞ 18 Min. ∞ Mittel 181/2 St. ∞ M401750 Tro Konzentration '

Tabelle XXVII.

Fig. 28.

\mathbf{BaCl}_2 .

$m{T}$	m / ₁₀	T	m/20	$m{T}$	m/50	$m{T}$	m/ ₁₀₀
7. IX. 638	_	11. IX. 104		7. IX. 633		7. IX. 628	nur 4 Fische
6 <u>80</u>	alle v. d. G.	185	2 v. d. G.	1199	1 †	1199	
636	1 †	230	1; d. anderen v. d. G.	8. n 9 ¹⁵	2 †	8. " 940	_
705	3 †	318	alle †	945	3 +	9. , 980	2 †
711	alle †		•	6 50	4 ÷	10. " 945	
	·			930	<u> </u>	1100	alle †
Lebensday	er 27 Min.		2 St.	9. " 930	alle † 15 St.		ca. 8 Tage

$m{T}$	m/ ₁₀	$m{T}$	m/*0	$m{T}$	m /60	2	T	m/ ₁₀₀
7. IX. 635	_	11. IX. 104		7. IX. 634		7. L	X. 622	
644	sehr unruhig	215	3 v. d. G.	720	1 v. d. G.		1199	_
649	alle v. d. G.	280	1 †	1199	2 †	8. 1	, 949	
651	1 †		•					
652	2 🛉	246	_	8. n 9 ¹⁵	3 †	9. 1	, 9*0	4 †
658	3 †	315	4 †	1100	alle †		518	alle †
7 <u>97</u>	4†	390	alle †		,			
7 <u>09</u>	alle †		•					
Lebensda	uer 24 Min.		2 St.		15 St.			ca. 2 Tage
Mittel	26 Min .		2 St.		15 St.			са. 2 ¹ / ₂ Т.

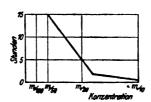


Fig. 29.

Tabelle XXVIII.

MnCl₂.

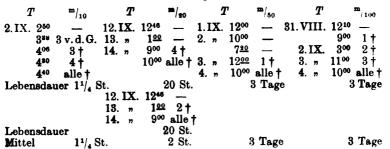
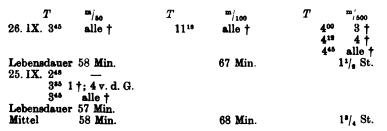


Tabelle XXIX.

FeCl_a.

	T	80 / 50	T		m/ ₁₀₀	T	™ /500
8. IX.	825		16. IX. 10	010		18. IX.	232
1911		alle †	11	100 1 †	; 3 v. d. G.		388 4 v. d. G.
		•	17	18	alle†		400 2 †
							419 3 †
							499 4 †
							448 alle †
		58 Min.			68 Min.		13/4 St.
26. IX.			16. IX. 10			18. IX.	
	386	a. v. d. G.	1	1 ⁰⁰ 3	v. d. G.		314 4 v. d. G.



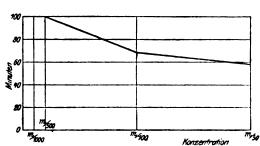


Fig. 30.

Tabelle XXX.

HgCl.						
$oldsymbol{T}$	1000					
20. IX. 2						
2	50 4 v. d. G.					
3	oo alle v. d. G.					
36	os alle†					
Lebensdau	er 15 Min.					
20. IX. 24	19					
2	0 1. a. a.					
3						
3						
Lebensd a u						
Mittel	15 Min.					

Tabelle XXXIa.

LiCi.

$m{T}$	™/₁ Verhalten	Gewicht	o/o aufgen. Wassermenge		
24. VIII. 1283 1284	-	1,245 1,251	+ 0,48		
12 ³⁴¹ /s 12 ³⁶¹ /s 12 ³⁷	Zuckungen, keine Atmung wie früher, Augen weiß letzte Zuckung, tot	1,201	+ V,±0		
1242	<i>5.</i>	1,200	- 3,60		
500		1,286	- 3,60 + 3,28		
Lehensdauer	4 Min.	•			

	m/1		
T	Verhalten	Gewicht	⁰ / ₀ aufgen. Wassermenge
24. VIII. 545		2,078	
546		2,046	- 1,54
547	krampfhaftes Atmen		
5477/2	Augen weiß, Zuck.; keine Atm.		
580	letzte Zuckung, tot	1 040	0.04
555 1015	Augen wieder schwarz	1,940 1,897	- 6,64 - 8,71
25. VIII. 845	Augen wieder schwarz	2,130	+ 2.50
Lebensdauer	5 Minuten	2,100	T 2,00
Mittel	4 ¹ / _e Minuten		
	- / 1		
	20 /5		
$m{r}$	Verhalten	Gewicht	$_{0}^{0}$ aufgen.
-	Vollation		Wassermenge
24. VIII. 728 742		1,270	
7 <u>44</u> 744	reag. auf mech. Reiz; v. d. G.	1,226	- 3,46
740	Zuckungen	1,220	- 0,10
741	reag. nicht mehr		
742	Zuckungen		
7 <u>50</u>	lctzte Zuckung; Augen weiß; †		
754		1,186	- 6,61
1012		1,126	- 11,34 - 11,1
25. VIII. 945 Lebensdauer	22 Minuten	1,129	11,1
25. VIII. 10 ⁰⁷	22 Minuten	1,297	
1009	reagiert nicht; v. d. G.	1,200	
1014	reagiert nicht		
1015	_		
1020	atmet nicht, zuckt	1,260	- 2,8 5
1094	<u> </u>		
1085	letzte Zuckung, tot	1 000	r 90
10 ²⁹ 26. VIII. 10 ²⁰	Augen trüb Augen klar	1,228 1,330	- 5,32 + 2,54
Lebensdauer	18 Minuten	1,000	T 4,0%
Mittel	20 Minuten		

Tabelle XXXIb.

LICL.

$m{r}$		m/ ₁₀ Verhalten	Gewicht	⁰ / ₀ aufgen. Wassermenge	
24. VIII.	798		0,864		
	740	reagiert; v. d. G.; erholt sich bald wieder	·		
	748	reagiert; v. d. G.	0,838	- 3,01	
	753	reagiert nicht mehr			
	758	atmet schwach			
	7 <u>59</u>	atmet nicht, zuckt			
	891	letzte Zuckung, tot	0,829	- 4,05 - 2,89	
1	1033	Ç.	0,839	– 2 ,8 9	

	m/ ₁₀	
$m{T}$	Verhalten	Gewicht $\frac{^{0}}{^{0}}$ aufgen. Wassermenge
25. VIII. 9 ²⁸ Lebensdauer	1 Stunde	0,909 + 5,21
25. VIII. 10 ⁹⁶ 12 ⁹⁰	reagiert	1,918 — 1,781 — 7,14
12 ¹⁵ 12 ⁸⁰ 2 6. VIII. 11 ⁸⁰	v. d. G. letzte Zuckung, tot	1,788 - 6,78 2,058 + 7,30
Lebensdauer Mittel	2 Stunden $1^{1}/_{s}$ Stunden	2,000 T 1,00
	™/ ₁₀₀	
$oldsymbol{T}$	Verhalten	Gewicht $0/0$ aufgen. Wassermenge
24. VIII. 624 648		$\begin{array}{cccc} 1,437 & - \\ 1,436 & - 0,07 \end{array}$
811 814	reagiert reagiert nicht; v. d. G.	1,478 + 2,85
8 7 0 800	letzte Zuckung; tot	1,543 + 7,38
25. VIII. 9 ²²	Augen trüb	1,567 + 9,05 $1,748 + 21,64$
Lebensdauer 28. VIII. 10 ⁰⁶	2 ¹ / ₂ Stunden	1,562
12 ⁰⁰ 245 3 8 0	reagiert	1,562
29. VIII. 945 Lebensdauer	letzte Zuckung; tot 3 ¹ / _o Stunden	1,680 + 7,55 1,918 + 22,78
Mittel	3 Stunden	

Die Bedeutung der Elektrolyte für Quellungsprozesse.

B. Elektrolytkombinationen.

Von

Emil Lenk.

(Aus der biologischen Versuchstation Lunz in Nieder-Österreich und der großherzoglichen technischen Hochschule zu Darmstadt.)

(Eingegangen am 4. Oktober 1915.)

Mit 62 Figuren im Text.

1. Literatur.

Bei der Betrachtung der im vorigen Abschnitte beschriebenen Versuche sahen wir allgemein, daß die Lösungen der einzelnen Elektrolyte von bestimmten Konzentrationen ab für die untersuchten Fische giftig wirken. Auch die in der Tierphysiologie benutzte "physiologische Kochsalzlösung" (ca. 0,7%,0), die als Durchspülungsfüssigkeit zur Erhaltung der Herztätigkeit allgemein verwendet wird, erweist sich als ungeeignet, als giftig (Salzfieber), trotzdem sie mit dem Blute isotonisch ist"). Da war es Sidney Ringer²), der diese giftige Kochsalzlösung dadurch zum

¹⁾ F. J. Bose et V. Vedel, Arch. de Physiol. 5. Sér. 8, 937, 1896.

L. Fornaca et F. Michele, Arch. Ital. de Biol. 22, 87, 1899.

Schaps, Stuttgarter Kongr. d. Med. 1906. — Gofflerze, Jahrb. f. Kinderheilk. 68, 1309, 1908. — L. E. Meyer und H. Rietschel, Berl. klin. Wochenschr. 50, 1908. — L. E. Mayer, Deutsche med. Wochenschr. 5, 1909. — E. Schloß, diese Zeitschr. 18, 15, 1909; 22, 283, 1910. — Friberger, Arch. f. Kinderheilk. 53, 17, 1910.

^{*)} Sidney Ringer, Journ. of Physiol. **8**, 380, 1882; **4**, 29, 222, 370, 1883; **5**, 98, 247, 1884. — Ringer and Buxton, ebenda **6**, 154, 1885; **8**, 288, 1887. — S. Ringer, ebenda **7**, 291, 1886; **11**, 79, 1890; **14**, 125, 1893. — Ringer and Sainsbury, ebenda **16**, 1, 1894. — S. Ringer, ebenda **18**, 425, 1895. — S. Ringer and Phear, ebenda **17**, 423, 1895. — Greene, Amer. Journ. of Physiol. **2**, 82, 1898. — S. Locke, Arch. f. d. ges. Physiol. **54**, 501, 1893; Journ. of Physiol. **18**, 318, 1895. — E. Groß, Arch. f. d. ges. Physiol. **79**, 264, 1903. — A. E. Guenther, Amer. Journ. of Physiol. **14**, 73, 1905. — Mines, Journ. of Physiol. **37**, 408, 1909.

größten Teile entgiften konnte, daß er ihr etwas an Kalium- und Calciumsalzen in Mengen zugab, wie diese im Blute vorkommen. Heute wird die altehrwürdige "physiologische Kochsalzlösung" nach und nach von der Ringer- oder Ringer-Lockeschen Lösung verdrängt. Sie enthält auf 100 Moleküle Kochsalz 2 Moleküle Kalium und 1 bis 2 Moleküle Calciumchlorid. Die Konzentration variiert mit der Tierart. Die Lockeschen Zahlen nähern sich denen, die Abderhalden 1) für die Salze im Kaninchenserum ermittelt hatte. Es ist nun eigenartig und höchst interessant, daß das Seewasser ebenfalls die gleiche Zusammensetzung hat 9) wie die Ringer-Lockesche Lösung und Loeb davon spricht, daß wir "in unserem Serum immer noch Seewasser als eine Art Erbstück mit herumschleppen".

Es tritt uns hier also die eigenartige Erscheinung vor Augen, daß ein giftig wirkendes Neutralsalz durch ein anderes entgiftet werden kann. Ohne Kenntnis dieser Tatsache haben die Botaniker schon lange Zeit bei ihren Wasserkulturen Elektrolytkombinationen benutzt, wie sie auch im Erdboden vorkommen. Seit einer Reihe von Dezennien wird als "Normallösung" für Pflanzen die Knopsche Nährlösung⁵) benutzt, die sich im Laufe der Zeit allerdings als nicht sehr günstig erwiesen hat. von der Crone⁴) gebührt das Verdienst, eine für eine große Reihe von Pflanzen ausgezeichnete Nährlösung gefunden zu haben.

Bei der Betrachtung der Nährlösungen für Pflanzen und der Ringerschen Lösung tritt uns vor allem die eine Tatsache vor Augen, wozu denn Kationen überhaupt nötig sind. Es ist ja wohl zu begreifen, daß Pflanzen der Anionen zum Aufbau ihrer Körpersubstanz bedürfen. Vom Kalium weiß man, daß Süßwasserpflanzen trotz des geringen Kaligehaltes des Wassers große Mengen anhäufen, und auch der Muskel enthält größere Mengen Kalium als das Blut. Hoppe-Seyler hat darauf aufmerksam gemacht, daß das Kalium in eine organische Verbindung tritt und so der osmotische Druck der Kaliumionen im Innern der Pflanze stets niedriger ist als im Außenmedium.

Um aber die Bedeutung der anderen Kationen zu erfassen, muß man mit Loeb⁵) Nährstoffe und Schutzstoffe unterscheiden. Zu

¹⁾ E. Abderhalden, Zeitschr. f. physiol. Chem. 23 u. 25.

^{*)} van't Hoff, Physical Chemistry in the service of the Sciences, Chicago 1903; Bildung der ozeanischen Salzablagerungen, Braunschweig 1905. — Bethe, Arch. f. d. ges. Physiol. 124, 541, 1908.

³⁾ Literatur über Nährlösungen für Pflanzen: W. Pfeffer, Pflanzenphysiologie I, 2. Aufl. 1904.

⁴⁾ van der Crone, Sitzungsber. d. Niederrhein. Ges. Bonn 1892; Bot.-Zeitg. 11, 122, 1904; Naturw. Rundschau 1905, 264. Diese Nährlösung enthält in 1 l Wasser 1 g KNO₈, 0,5 g MgSO₄, 0,5 g CaSO₄, 0,25 g Ca₈(PO₄)₂ und 0,25 g Fe₃PO₄.

b) J. Loeb, Dynamik der Lebenserscheinungen. Ambr. Barth, Leipzig, 1906.

den Nährstoffen gehören CO, NH, NO, PO, und vielleicht Kalium. Für Tiere ist NH4 und NO2 unnötig, weil sie ja die aus diesen Ionen entstandenen Eiweißstoffe von der Pflanze bereits vorgebildet erhalten. Es ist aber höchst wunderlich, daß Natriumsalze in allen pflanzlichen Nährlösungen fehlen, und in vielen auch Calciumsalze 1). Diese und ähnliche Tatsachen haben Loeb dazu geführt, die zum Aufbau der Lebenssubstanz unnötigen, aber für das Leben dennoch höchst wichtigen Ionen als Schutzstoffe den Nährstoffen entgegenzustellen. Vor der Aufstellung dieser beiden Begriffe hat auf diesem Gebiete in der Tierphysiologie eine ziemliche Verwirrung geherrscht. Man suchte zunächst zu erfahren, ob eine Anpassung mariner Organismen an Süßwasser oder von Süßwassertieren an Meerwasser möglich wäre. Man kennt schon seit langem eine ganze Anzahl von natürlicher Anpassung mariner Formen an das Süßwasser²). Es gibt zahlreiche Seen, die sich vom Meere losgetrennt haben und die durch steten Zufluß von Süßwasser nach und nach salzarm geworden sind. Die ersten Versuche über die künstliche Anpassung mariner Formen an salzarmes Wasser rühren von Bendant³) her (1816); Parallel mit diesen Untersuchungen gingen Versuche über die Anpassung von Süßwassertieren an Salzwasser. Manche großen Süßwasserflächen, wie z. B. das Kaspische Meer, wurden allmählich salzreicher und gestalteten sich so zum Schauplatz eines Akklimatisationsversuches im größten Stile. Aber auch Meeresgebiete, wie z. B. die Ostsee, zeigen in ihren verschiedenen Regionen kontinuierliche Übergänge vom Süß- zum Meerwasser. Ferner wurde auch die Fauna salzreicher Binnenseen studiert4). In salzgesättigten Tümpeln, deren Boden mit Salzkrystallen bedeckt ist, wurden Tierformen angetroffen (Flagellaten, Artemien, Statiomyslarven, Dytisciden und Mollusken). Die Artemia salina ist bei diesen Untersuchungen zu einer gewissen Berühmtheit gelangt⁵). Eine weitere Reihe von Versuchen galt der künstlichen Anpassung von Süß-

¹⁾ Raulins Lösung siehe Duclaux, Traité de Microbiologie 1, 176.

^{*)} Literatur über die Anpassung mariner Formen an das Leben im Süßwasser und umgekehrt: O. v. Fürth, Vergleichende chemische Physiologie der niederen Tiere, 1903. — Cuénot, L'influence du milieu sur les animaux. Paris 1894. — R. H. Johnson and R. W. Hall, Science 2, 1900. — Semper, Die natürlichen Existenzbedingungen der Tiere, 1880.

^{*)} F. S. Bendant, Annal. de Chimie et de Phys. 1816.

⁴⁾ Schmankewitsch und Butschinsky haben die russischen, Blauchard die nordafrikanischen, Entz und Dadoy die ungarischen und Florentin (Annal. de sciences natur. 10, 209, 1900) die lothringischen Salzseen untersucht.

b) W. Schmankewitsch, Zeitschr. f. wiss. Zool., Suppl. 25, 103, 1875; 28, 400, 1877; 29, 429, 1877.

wassertieren an salzreiche Medien 1). Balbian 1°) wendete zu seinen Untersuchungen die plasmolytische Methode von de Vries, und zwar bei nicht eingekapselten Infusorien an. Die Wasserentziehung infolge gesteigerter Salzkonzentration äußerte sich in einer Schrumpfung des Zelleibes 3), wofür Balbiani die Bezeichnung Plasmorhyse ($\pi\lambda\dot{a}\sigma\mu a$ und $\dot{\rho}v\sigma\dot{\phi}_{\epsilon}$ [die Falte]) vorschlägt.

Die älteren Physiologen waren allgemein der Ansicht, daß die deletäre Wirkung des Seewassers auf Süßwassertiere und umgekehrt infolge eines "rätselhaften Giftes" zustande komme, und es bedurfte der Autorität Paul Berths"), um diesen Irrtum aus der Welt zu schaffen. Wir werden aber im Verlauf unserer Untersuchungen und der anderer Autoren sehen, daß auch eine Erklärung dieser Erscheinungen durch osmotische Vorgänge nicht genügt. Jedenfalls ergaben die früher zitierten Arbeiten, daß von mystischen Giften nicht die Rede sein kann, daß vielmehr die Erklärung dieser Tatsachen experimentell zu geben ist.

Als man diese Beobachtungen aus der Natur im Laboratorium weiter verfolgte und die Mystik des "rätselhaften Giftes" allmählich zu schwinden begann, war es die damals entdeckte Lehre vom osmotischen Druck, die diese Erscheinungen in ein neues Licht rückte. Es ist wohl oft ein Fehler speziell der Biochemiker gewesen, daß sie mit einer in der unbelebten Natur gefundenen Tatsache eine große Anzahl biochemischer Rätsel gelöst zu haben glauben.

Man hat nun in fast allen Tierklassen den osmotischen Druck des Blutes mittels der Methode der Gefrierpunktserniedrigung bestimmt⁴).

Die ersten bedeutenden experimentellen Arbeiten über die Bedeutung der Elektrolyte in Gemischen für Lebewesen rühren von Curt Herbst⁵) her. Die Zusammensetzung des Meerwassers versuchte er dadurch zu studieren, daß er die einzelnen Salze ausschaltete oder ein körperfremdes, chemisch ähnliches hinzugab und dann die Entwicklung von Seeigeleiern in diesen Medien beobachtete. Aus der Tatsache, daß

¹) V. Czerny, Arch. f. mikr. Anat. 5, 158, 1866. — Roser, Beiträge zur Biologie niederster Organismen. 1881.

^{*)} E. G. Balbiani, Arch. d'Anat. micr. 2, 518, 1898. — Jasuda, Anastationes Zoologicase Japonensis, Tokyo 1, 23; Botanicae Magazine, Tokyo 1897.

^{*)} Paul Berth, Compt. rend. 78, 382 ff., 464 ff., 1871; Compt. rend. Soc. Biol. 23, 59, 1873.

⁴⁾ Eine Zusammenstellung siehe: E. Lenk, Aus der Natur, 1912.

<sup>b) Curt Herbst, Zeitschr. f. wiss. Zool. 55, 446, 1893; Mitteil. d.
zool. Station Neapel 11, 136, 1895; Arch. f. Entwicklungsmechanik 2, 455, 1895; 5, 649, 1897; 7, 486, 1890; 9, 424, 1900; 11, 617, 1901; 17, 306, 1904. — J. Loeb, Arch. f. d. ges. Physiol. 97, 394, 1893; 101 340, 1904.</sup>

dies unmöglich ist, schloß dann Herbst, daß die einzelnen Salze zum Entwicklungsprozeß unbedingt nötig sind. Trotz der Verdienste, die sich Herbst durch seine gründlichen wie mühevollen Untersuchungen erworben hatte, lag dennoch in seinen Schlußfolgerungen ein Irrtum vor, den erst Jaques Loeb aufzuklären vermochte.

In einer großen Reihe von Versuchen konnte Loeb¹) nachweisen, daß die von Herbst allgemein angenommene Notwendigkeit jedes einzelnen Meerwasserbestandteiles für die Entwicklung der Seeigel nicht allgemein zutrifft, daß vielmehr die Ionenkombinationen der Kationen Natrium und Calcium unerläßlich sind. Die Eier entwickeln sich nicht deshalb nicht, weil sie der einzelnen Salze als Nährstoff bedürfen, sondern weil durch den Entzug eines Salzes das Wasser "giftig", oder, wie es Loeb nennt, unausgeglichen, nicht äquilibriert wird.

Die Theorie der äquilibrierten Nährlösungen studierte Loeb vor allem an einem marinen Fisch, Fundulus heteroclitus, und dessen Eiern. Die befruchteten Eier entwickeln sich in destilliertem Wasser, nicht aber in einer Kochsalzlösung von der Konzentration, wie dieses Salz im Meerwasser vorkommt. Fügt man aber der Kochsalzlösung etwas Chlorcalcium zu, so können alle Eier Embryonen bilden. Diese Entgiftung des Chlornatriums gelingt aber nicht nur durch den Zusatz von Chlorcalcium, sondern auch durch andere Erdalkali, ja sogar durch Schwermetallsalze, und zwar existiert für jedes Salz eine optimale Konzentration des Antagonismus. Es sei mir gestattet, hier eine Tabelle (XXXII) wiederzugeben, die die Resultate der Entgiftung von Kochsalz durch die verschiedensten Salze angibt, die im günstigsten Falle erzielt werden können. (Aus Höbers "Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe", 3. Aufl., S. 435, 1911.)

¹⁾ Jaques Loeb, Arbeiten über den Antagonismus von Salzlösungen: Arch. f. d. ges. Physiol. 75, 303, 1899; Festschr. f. Prof. Fick, 1899; Amer. Journ. of Phys. 3, 327, 383, 1900; Arch. f. d. ges. Physiol. 88, 68, 1901; Amer. Journ. of Phys. 6, 411, 1902; Univers. of Chicago, Decennial Publications 10, 3, 1902; Arch. f. d. ges. Physiol. 97, 394, 1903; Amer. Journ. of Phys. 5, 362, 1901; 7, 199, 1902; 8, 14, 1903; Arch. f. d. ges. Physiol. 101, 340, 1904; 103, 503, 1904; 107, 252, 1905; Journ. of Biolog. Chem. 1, 427, 1906; Vorlesungen über die Dynamik der Lebenserscheinungen, 1906; diese Zeitschr. 2, 81, 1907; 5, 351, 1907; Journ. of Biolog. Chem. 3, 191, 1907; in Oppenheimers Handb. d. Biochem. 2, 1. Hälfte 104, 1910; diese Zeitschr. 27, 340, 1910; 28, 176, 1910; 31, 450, 1911; 32, 155, 308, 1911; 33, 480, 1911; 36, 275, 1911. — Loeb und Wasteneys, ebenda 39, 185, 1912. — Loeb, ebenda 39, 194, 1912; 47, 127, 1912.

	2	Zusamn		Prozente der sich zum Embryo entwickeln- den Eier		
100 ccm	5/.	m-Na(ZI			T 0
100 "	5/8			m 1 m-BaCl		90
100 "	5/8	,	+2,			90
100 "	5/8	,	+ 1,5			80
100 "	5/8	"	+2 ,	1 m-MgCl		75
100 "	5/8	77	+2,	41 0 0 0		88
100 n	11/1	_	+8 #	$^{1}/_{198}$ m-ZnSO ₄		75
100 n	5/8	, ,,	+8,			55
100 »	6/8	77	+4 "	¹ / _a m-NiCl _a		5
100 n	5/8	n	+1 =	1/64 m-Pb-Acetat	.	17
100 n	5/8	n	+1 **	$^{1}/_{100}$ m-UO ₂ (NO ₂) ₂		3

Tabelle XXXII.

An diese Untersuchungen schlossen sich Versuche von Wolfgang Ostwald¹) an, die in dem damaligen Institut Loebs in Beckeley (Kalifornien) ausgeführt wurden. Ostwald operierte an einer Süßwassercrustacee, Gamarus pulex de Geer, und benutzte diejenigen Salze, die im Seewasser vorkommen, in verschiedenen Kombinationen. Trotzdem diese Crustacee in Süßwasser lebt, erwies sich das Meerwasser als viel harmloser als die Lösungen einfacher Elektrolyte in der mit dem Seewasser isoosmotischen Konzentration oder als Lösungen von Kochsalz mit Magnesium- oder Calciumchlorid. Das Meerwasser ist also nach Loeb eine ausgeglichene oder physiologisch äquilibrierte Lösung.

Eine Reihe ähnlicher Versuche über die Entgiftung von Kochsalzlösungen durch andere Elektrolyte stellte Lillie^s) an, indem er den Einfluß von Elektrolytgemischen auf die Cilienbewegung der Larvenform des Meeresaneliden Arenicola und an dem Kiemenepithel von Mytilus edulis studierte. Auch bei diesen Versuchen ergab sich eine sehr große Giftigkeit einer Kochsalzlösung, die durch den Zusatz anderer Kationen zum Teil entgiftet werden konnte, wobei er für die Beeinflussung der Cilienbewegung folgende Reihen aufstellte:

 $Mg > Ba > Ca > Sr > Mn > Fe > Co > Ni > Cd > Pb > Zn > Cu > UO_2$ und bei den Versuchen am Kiemenepithel von Mytilus eine ähnliche Reihe erhielt:

Mg > Ba > Ca > Sr > Be > Mn > Fe > Co > Ni > Zn > Cd > Pb, in welchen Reihen die Kationen so geordnet sind, daß die ersteren die Kochsalzlösung stärker entgiften können als die letzteren.

Dieser Antagonismus von Natrium und anderen Kationen steht aber nicht vereinzelt da. Es wurde von Loeb z. B. beobachtet, daß sich die Schwimmglocke von Polyorchis nur in Gegenwart von Mag-

¹⁾ Wo. Ostwald, Arch. f. d. ges. Physiol. 106, 568, 1905.

⁹) R. S. Lillie, Amer. Journ. of Physiol. **5**, 56, 1901; **7**, 25, 1902; **10**, 419, 1904; **17**, 89, 1906.

nesiumsalzen rhythmisch contrahiert 1), daß aber durch Zusatz von Chlorcalcium die stimulierende Wirkung des Magnesiumsalzes unterdrückt wird. Beim randkörperlosen Zentrum von Polyorchis wurde aber gerade das Gegenteil beobachtet. Calcium-, Strontium- und Bariumsalze reizen das Zentrum zur Tätigkeit, während Magnesium diese Wirkung hemmt?). Ferner ist von Loeb in Gemeinschaft mit Hardolph Wasteneys³) beobschtet worden, daß ein geringer Zusatz einer Chlorkaliumlösung die Giftigkeit der letzteren erhöht, solange weniger als 8 oder 10 Moleküle Natriumchlorid auf 1 Molekül Kaliumchlorid kommen. Sobald aber die Konzentration der Chlornatriumlösung erhöht wird, daß 17 oder mehr Moleküle mit 1 Molekül Kaliumchlorid in Lösung sind, tritt eine Entgiftung der Chlorkalilösung ein. Der Übersichtlichkeit dieser Erscheinungen wegen führte Loeb den Begriff des Entgiftungskoeffizienten ein, d. h. des Quotienten aus der Konzentration des giftigen Ions und des antagonistisch wirkenden in der Konzentration, die eben zur Entgiftung nötig ist.

So ist der Entgiftungskoeffizient $\frac{C_{KCl}}{C_{NaCl}} = {}^{1}/_{17}$; ist derselbe größer als ${}^{1}/_{17}$, so geht der Fisch an Kaliumvergiftung zugrunde; fällt der Wert unter ${}^{1}/_{195}$ resp. ${}^{1}/_{250}$, so stirbt der Fisch an Chlornatriumvergiftung. Im Meerwasser beträgt dieser Wert ${}^{1}/_{45}$, liegt also nahezu zwischen diesen zwei Werten.

Ein ähnlicher Antagonismus besteht auch zwischen Lithiumchlorid und Zinksulfat, Kaliumchlorid und Zinksulfat, Kochsalz und Aluminiumchlorid usw.

Jüngst hat Loeb⁴) eine einfache Methode zur Prüfung des Antagonismus angegeben, die darin besteht, daß man befruchtete Eier von Fundulus in bestimmte Lösungen bringt und beobachtet, ob diese Eier an der Oberfläche schwimmen oder untersinken. Es hat sich ergeben, daß die Eier in den Lösungen einfacher Elektrolyte (in der Konzentration, wie die Salze im Meerwasser vorkommen) rasch zu Boden sinken, während sie in richtiger Kombination mehrere Tage an der Oberfläche schwimmen⁵).

¹⁾ J. Loeb, Journ. of Biol. Chem. 1, 427, 1906.

³) Weitere Literatur über den Antagonismus von Magnesium und Calcium bei Tieren: J. Loeb, Amer. Journ. of Physiol. 3, 434, 1900. — S. J. Meltzer and J. Auer, Proc. of the Society of Exper. Biol. and Med. 1907, Oct. 16.; Proc. Roy. Soc. 80B, 260, 1908.

^{*)} J. Loeb und H. Wasteneys, diese Zeitschr. **31**, 450; **32**, 148, 1911.

⁴⁾ J. Loeb, diese Zeitschr. 47, 127, 1912.

b) Weitere Literatur über den Antagonismus bei Tieren: C. W. Greene, Amer. Journ. of Physiol. 23, 174, 1898. — D. J. Lingle, ebenda 4, 265, 1907. — R. Row, Journ. of the Bombay Medical and Physical Soc. 1901, Febr. — H. Neilson, Amer. Journ. of Physiol. 7, 402, 1902. — A. Moore, ebenda 7, 315, 1902. — W. D. Zoethut,

Die Literatur über die Bedeutung des Salzantagonismus für Tiere kann nicht abgeschlossen werden, ehe nicht eine kürzlich erschienene Arbeit von Kotzoff¹) erwähnt wird, die sich mit der Einwirkung von verschiedenen Salzkombinationen auf ein marines Infusorium (Zoothamnium alternans) beschäftigt. Im Querschnitt besteht das Infusor aus einer hohlen zylindrischen Hülle, in dem der Achsenfaden oder das Myonen frei hängt. Das letztere besteht aus einer äußeren Hülle, die von Protoplasma angefüllt ist, das in zwei Schichten differenziert: a) in eine äußere körnige Schicht, das Thekoplasma, und b) in eine innere stark lichtbrechende Schicht, das Kinoplasma. Kotzoff beobachtet nun die Zeit, wann das Kinoplasma in den betreffenden Lösungen zerfällt. Er untersucht dann weiter die Fähigkeit, eine 0,5 molekulare Chlorkaliumlösung zu entgiften und kommt zum Schlusse, daß es relativ großer Mengen einwertiger Ionen, dagegen bedeutend weniger zweiwertiger Ionen bedarf, um die Chlorkalilösung antagonistisch zu beeinflussen.

Im Anschlusse an Loebs Versuche hat Osterhout³) sehr eingehende Untersuchungen über die Bedeutung physiologisch äquilibrierter

ebenda 7, 199, 1902. — R. Row, Journ. of Physiol. 29, 440, 1903. — P. G. Stiles, Amer. Journ. of Physiol. 8, 269, 1903. — Overton, Arch. f. d. ges. Physiol. 105, 176, 1904. — A. P. Mathews, Amer. Journ. of Physiol. 12, 419, 1904. — E. G. Martin, ebenda 11, 370, 1904. — R. B. Robertson, Arch. f. d. ges. Physiol. 110, 610, 1905. — R. Höber, ebenda 106, 599, 1905. — C. G. Rogers, Journ. of the Exper. Zoology 2, 237, 1905. — D. J. Lingle, Amer. Journ. of Physiol. 14, 433, 1905. - T. B. Robertson, Biolog. Bull. 11, 53, 1906. - W. Pauli, Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss. Wien, mathem.-naturw. Kl. 115, 3, 1906. -E. G. Martin, Amer. Journ. of Physiol. 16, 191, 1906. — S. J. Meltzer and J. Auer, Proc. of the Society of Exper. Biol. and Med. 1906, Oct. 16. - R. Höber, Arch. f. d. ges. Physiol. 120, 492, 1907. - S. A. Mathews and D. E. Jackson, Amer. Journ. of Physiol. 19, 5, 1907. — S. J. Meltzer und J. Auer, Centralbl. f. Physiol. 21, 788, 1908. — A. Bethe, Arch. f. d. ges. Physiol. 124, 541, 1908. — W. H. Howell, Amer. Journ. of Physiol. 23, 174, 1908. — J. S. Meltzer and J. Auer, Proc. Roy. Soc. 80 B, 260, 1908. — M. v. Eisler, Centralbl. f. Bakt. 1, 51, 546, 1909. — A. Bethe, Arch. f. d. ges. Physiol. 127, 219, 1909. — W. D. Zoethut, Amer. Journ. of Physiol. 23, 374, 1909. — Hamburger und de Haan, diese Zeitschr. 24, 470, 1910. — Joseph und Meltzer, Centralbl. f. Physiol. 24, 7, 1910.

¹) N. K. Kotzoff, Arch. f. d. ges. Physiol. 149, 327, 1913.

W. J. Osterhout, Journ. of Biol. Chem. 1, 363, 1905; Botan.
 Gaz. 42, 127, 1906; Univ. of California Publ. Botany 2, 231, 235, 317, 1907; Botan. Gaz. 44, 259, 1907; Journ. of Biol. Chem. 18, 63, 1907; Jahrb. f. wiss. Botan. 40, 121, 1908; Botan. Gaz. 45, 117, 1908; Univ. of California Publ. 3, 331, 1908; Pringsheims Jahrb. 46, 1908; Botan. Gaz. 47, 48, 1909; Zeitschr. f. physiol. Chem. 70, 408, 1910. — W. Benneke, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 25, 322, 1907.

66 E. Lenk:

Lösungen für Pflanzen angestellt. Die Giftigkeit der einzelnen Salze in der Konzentration, wie sie in den Nährlösungen vorkommen, wurde wegen ihrer großen Verdünnung nicht erkannt. Osterhout zeigte nun, daß destilliertes Wasser wie für Fundulus so auch für eine ganze Anzahl von marinen Pflanzen völlig harmlos ist (die Seepflanze Ruppia maritima hält sich darin 80 Tage), und daß die Giftigkeit der einzelnen Salze für marine wie für Landpflanzen wohl zutage tritt, wenn man höher konzentrierte Lösungen verwendet. Auch für Pflanzen kann diese giftige Wirkung der einzelnen Salze durch andere Salze äquilibriert werden. Ganz ähnliche Versuche erhielt Osterhout an Süßwasser bei der Untersuchung über die Wachstumsbedingungen bei den Sporen von Equisitum, bei der Wurzelbildung bei Tradescantia und Tropaeolum.

Einen Überblick über die Lebensdauer von Ruppia maritima in den einzelnen Lösungen gibt folgende Tabelle 1).

Lösung	Lebensdauer in Tagen	Lösung	Lebensdauer in Tagen
Seewasser Destill. Wasser Grundwasser NaCl KCl CaCl MgCl MgSO	150 80 85 23 56 58 19	NaCl + KCl	23 25 65 30 45 88 150

Tabelle XXXVII.

Die Bedeutung der antagonistischen Salzlösungen für die Landwirtschaft hat Oskar Loew²) studiert. Wenn er auch in mancher Beziehung im Irrtum ist und z. B. behauptet, Chlorcalcium könne nur Magnesiumchlorid und keine anderen Salze entgiften, so gebührt ihm doch das Verdienst, die Wichtigkeit der antagonistisch wirkenden Kationen für die Landwirtschaft erbracht zu haben, eine Anregung, die sicherlich in des Wortes eigenster Bedeutung viele Früchte tragen wird³).

¹⁾ Die Salze werden in den Konzentrationen benutzt, wie sie im Meerwasser vorkommen.

Oskar Loew und K. Aso, Bull. Coll. Agric. Tokio 7, 395, 1907.
 A. Loew, Botan. Gaz. 46, 302, 1908.
 U. Susuki, Coll. Agric. Tokio 4, 69; Malys Jahresb. f. Tierchem. 30, 833, 1900.

^{*)} Weitere Literatur über den Antagonismus bei Pflanzen: G. Daihuhara, Bull. Coll. of Agric. Tokyo 501, 1903 (Ca und Mg). — K. Aso, ibidem 495, 1903 (Ca und Mg). — O. Loew, Chem.-Zeitg. 27, 1225, 1903 (Mg, Sr, Ba); Landw. Jahrb. 32, 509, 1904 (Mg, Ba). — Paul Bruch, ibidem 517, 1904 (Mg, Sr). — A. Loew, Landw. Jahrb. 35, 527, 1906 (Ca, Mg). — S. Machida, Bull. experim. station Nishigahara, Japan 1, 12, 1906 (Ca und Mg). — H. Micheels, Compt. rend. do l'Acad. des Sc. 143, 1181,

2. Eigene Versuche.

Aus den auf den vorigen Seiten kurz wiedergegebenen Untersuchungen ist die Notwendigkeit der Elektrolytkombinationen für Lebewesen erwiesen. Im ersten Teil ließ sich, wenn auch nicht eine vollkommene Parallelität, so doch ein gewisser Zusammenhang zwischen Quellung eines Salzes und dessen Giftwirkung zeigen. Ich stellte mir nun die Aufgabe, der Frage nachzugehen, ob sich dieser Zusammenhang auch für Elektrolytkombinationen ergebe, was speziell für die Theorie des Quellungsvorganges von Bedeutung sein könnte. Es ist ja merkwürdig, daß eine systematische Untersuchung über den Einfluß der Elektrolytkombinationen auf Kolloide vollständig fehlt. Nur die Beobachtungen zweier Autoren können erwähnt werden. sind dies ältere Versuche von Linder und Picton¹), die zeigen konnten, daß die Fällungskraft einwertiger Ionen auf das negative kolloidale Arsensulfid durch Hinzufügen eines zweiwertigen Salzes gehemmt wird, und daß diese hemmende Wirkung bei Verwendung von zwei einwertigen oder von zwei zweiwertigen Salzen nicht auftritt. Dann sind noch einige wenige Beobachtungen von Wolfgang Pauli²) an Eiweiß zu erwähnen, daß zwei Salze, miteinander kombiniert, Eiweiß nicht fällen, während sie in gleichen Konzentrationen, einzeln verwendet, Eiweiß ausflocken; aber auch bei diesen Versuchen ist nur die hemmende Wirkung eines zweiwertigen Salzes in bezug auf ein einwertiges festgestellt worden; die Wirkung eines einwertigen Salzes wird durch ein einwertiges nicht paralysiert, sie addiert sich vielmehr.

Ich stellte also bei jedem weiteren Mangel an einschlägigen Beobachtungen zuerst systematische Versuche, wieder parallel an Gelatine, Bohnen und Fischen an. Da es mir meine Zeit jedoch nicht gestattete, die Fischversuche vorläufig weiter fort-

^{1907;} Arch. intern. de Physiol. 4, 410, 1907. — K. Aso, Journ. of Coll. of Agric. 1, 1909 (Ca, Mg). — L. v. Portheim und M. Samec, Flora 99, 206, 1909. — J. Ssücz, Sitzungsber. d. Wien. Akad. 119, VII, 737, Juli 1910. — G. Bertrand und M. Javellier, Compt. rend. 152, 900, 1137, 1911. — J. Szücz, Jahrb. f. wiss. Botan. 52, 85, 1913.

¹) Linder und Picton, Journ. Chem. Soc. 67, 63, 1895. — Blake, Americ. Journ. of Sc. 16, 433, 1903.

^{*)} Wolfgang Pauli, Beiträge z. chem. Physiol. 5, 27, 1903; 6, 233, 1905.

68 E. Lenk:

zuführen, so begnügte ich mich mit der Beeinflussung verschiedener Kationen aufeinander. Nur an der Gelatine wurden umfangreiche Untersuchungen angestellt. Dies mag auch insoweit genügen, als die Lebensdauer von Tieren in Elektrolytkombinationen von früheren Autoren genügend studiert wurde.

a) Gelatine.

Die Gelatine wurde auf dieselbe Art, wie früher angegeben (S. 19), hergestellt und "kombinierte" Lösungen so bereitet, daß je eine kleine Menge einer konzentrierten Lösung abpipettiert und beide Salzlösungen gemischt und auf ein bestimmtes Maß aufgefüllt wurden. Wenn z. B. die Überschrift eines Versuches $m/_{10}$ -MgSO₄ $+ m/_{100}$ -NaCl lautet, so ist dies so zu verstehen, daß 10 ccm einer m/1-Magnesiumsulfatlösung mit 1 ccm einer m/,-Kochsalzlösung gemischt und auf 100 ccm mit destilliertem Wasser aufgefüllt wurden. So ist in der kombinierten Lösung tatsächlich eine m/10-Magnesiumsulfat- und eine m/100-Natriumchloridlösung. Unter den einzelnen tabellarisch wiedergegebenen Versuchen befinden sich drei Quellungskurven: Die strichliert (----) gezeichnete Kurve zeigt den Quellungsverlauf der Gelatine in der kombinierten Lösung, die beiden anderen Kurven stellen den Quellungsverlauf in den einzelnen Lösungen dar (Variable: 1. Zeit, 2. aufgenommene Flüssigkeitsmenge in Gramm pro 1 g trockener Gelatine). Nach jeder Versuchsreihe befindet sich wieder eine zusammenfassende Kurventafel, welche die Abhängigkeit der Quellung von der Konzentration zeigt. Diese ist so angelegt, daß als Variable Konzentration und aufgenommene Flüssigkeitsmenge in Gramm pro 1 g trockener Gelatine fungieren, wobei als Quellungszeit 100 Stunden gilt. Auch hier bedeutet die strichliert (-----) gezeichnete Kurve den Quellungsverlauf in der kombinierten Lösung, während die beiden anderen Kurven für die einzelnen Lösungen gelten. Von diesen beiden verläuft eine zur Ordinate parallel, da sie die Quellung der Leimplatte in dem Salz graphisch wiedergibt, das in stets gleicher Konzentration in der kombinierten Lösung anwesend ist, während die andere die Abhängigkeit der Quellung von der Konzentration des anderen einzelnen Salzes angibt. So ist der Einfluß der Elektrolytkonzentration und der einzelnen Salze auf die Quellung leicht zu überblicken.

Ich verfüge über 3 Gruppen von Versuchen an kombinierten Lösungen.

	Tabelle	Figur
1. Gleiches Anion, ungleiche	s Kation.	
a) $m_{/6}$ -NaCl + KCl ($m_{/6}$ bis $m_{/1000}$) b) $m_{/6}$ -NaCl + CaCl ₂ ($m_{/6}$ bis $m_{/1000}$) c) $m_{/6}$ -NaCl + MgCl ₂ ($m_{/100}$ und $m_{/900}$) d) $m_{/6}$ -NaCl + BaCl ₂ ($m_{/100}$ und $m_{/900}$) e) $m_{/100}$ -MgCl ₂ + CaCl ₂ ($m_{/6}$ bis $m_{/1000}$) f) $m_{/1000}$ -HgCl ₂ + CaCl ₂ ($m_{/6}$ bis $m_{/1000}$) g) $m_{/100}$ -MgCl ₂ + NaCl (4 m bis $m_{/1}$)	XXXII XXXIII XXXIV XXXVI XXXVII XXXVIII	1— 4 5— 8 9—10 11—14 15—18 19—22 23—25
2. Gleiches Kation, ungleich	es Anion.	
a) $^{m}/_{5}$ -NaCl + Na $_{2}$ SO $_{4}$ ($^{m}/_{2}$ bis $^{m}/_{1000}$) b) $^{m}/_{100}$ -NaCl + Na $_{2}$ SO $_{4}$ ($^{m}/_{2}$ bis $^{m}/_{100}$) c) $^{m}/_{5}$ -MgCl $_{2}$ + MgSO $_{4}$ ($^{m}/_{2}$ bis $^{m}/_{1000}$) d) $^{m}/_{100}$ -MgCl $_{2}$ + MgSO $_{4}$ ($^{m}/_{2}$ bis $^{m}/_{1000}$)	XXXIX XL XLI XLII	26—31 32—36 37—42 43—47
3. Ungleiches Anion, ungleich	nes Kation.	
a) $^{m}/_{100}$ -NaCl + MgSO ₄ ($^{m}/_{2}$ bis $^{m}/_{100}$) b) $^{m}/_{100}$ -MgCl ₂ + Na ₂ SO ₄ ($^{m}/_{2}$ bis $^{m}/_{100}$)	XLIII XLIV	48—52 53—57

Diese Versuche lehren, daß sich die Wirkungen der einzelnen Salze in bezug auf die Quellung nicht addieren, daß vielmehr die "kombinierte" Kurve in den meisten Fällen zwischen den Kurven der einzelnen Salze verläuft. Die große Anzahl von Versuchen (ca. 100) rechtfertigt diesen allgemein ausgesprochenen Satz.

1. Gleiches Anion, ungleiches Kation.

- a) Das erste Elektrolytpaar mit zwei einwertigen Kationen, m/5-NaCl + KCl (m/5 bis m/1000) (S. 73 bis 74, Tabelle XXXII, Fig. 1 bis 4), verhält sich nach dem oben ausgesprochenen Satz: Die "kombinierte" Kurve verläuft zwischen den einzelnen Kurven, und zwar wird die Quellung vom Salz, das in verschiedenen Konzentrationen angewendet wurde (KCl) so beeinflußt, daß die "kombinierte" Kurve zu der KCl-Kurve ungefähr parallel läuft, sich also nach den niederen Konzentrationen des Chlorkaliums von der NaCl-Kurve allmählich entfernt.
- b) Etwas anders verlaufen die Kurven des Elektrolytpaares $^{m}/_{5}$ -NaCl + CaCl $_{2}$ ($^{m}/_{5}$ bis $^{m}/_{1000}$) (S. 74 bis 75, Tabelle XXXIII, Fig. 5 bis 8), wobei einem einwertigen Salz verschiedene Mengen eines zweiwertigen zugesetzt wurden. Die Quellung der Gelatine in der $^{m}/_{5}$ -Calciumchloridlösung ist höher als in der

70 E. Lenk:

gleich konzentrierten Kochsalzlösung. In diesem Falle erhebt sich die "kombinierte" Kurve über beide anderen; es tritt in dieser Mischung (m/5-CaCl₂ + m/5-NaCl) der seltene Fall ein, daß die Quellung in der Elektrolytkombination größer ist als in jeder der einzelnen Lösungen. In den anderen Konzentrationen des Calciumchlorids tritt wieder der allgemeine Fall ein, wie ihn die Versuchsreihe 1a darstellt.

- c) Auch die Kombinationen $m/_5$ -NaCl und $m/_{100}$ und $m/_{200}$ MgCl₂ sind geeignet, um den allgemeinen Satz von der Quellung in Elektrolytkombinationen zu bestätigen (S. 75 bis 76, Tabelle XXXIV, Fig. 9 und 10).
- d) Ebenso verhält es sich bei den Kombinationen $m/_{\delta}$ -NaCl + BaCl₂ ($m/_{\delta 0}$ bis $m/_{\delta 00}$ (S. 76, Tabelle XXXV, Fig. 11 bis 14).
- e) In dieser Kombination, bei der zwei zweiwertige Kationen, $\operatorname{CaCl_2}(m/_5\operatorname{bis} m/_{500}) + m/_{10}\operatorname{-MgCl_2}$, zur Anwendung kamen (S. 76 bis 77, Tabelle XXXVI, Fig. 15 bis 18), bewegt sich die kombinierte Kurve nicht zwischen den "einzelnen", sie erhebt sich vielmehr wegen der übergroßen Quellung in den einzelnen Salzen über beide "einzelne" Kurven. Man sieht aber auch in diesem Falle, wie sich die beiden Salze gegenseitig beeinflussen.
- f) Dieser Versuch, $m/_{1000}$ -HgCl₂ + CaCl₂ ($m/_{5}$ bis $m/_{1000}$) (S. 77 bis 78, Tabelle XXXVII, Fig. 19 bis 22), ist dadurch interessant, weil die Quellung in der kombinierten Lösung ebenso groß ist, wie in der Chlorcalciumlösung allein. Der Zusatz der $m/_{1000}$ -Quecksilberchloridlösung, in der die Quellung der Gelatine außerordentlich schwach ausgeprägt ist, ist für die Flüssigkeitsaufnahme der Gelatine in der kombinierten Lösung von gar keiner Bedeutung. Dieser außergewöhnliche Quellungsverlauf findet zweifellos in der Bildung eines komplexen Salzes eine einfache Erklärung. Da aber diese Verbindungen, wie sie das Sublimat z. B. mit den Alkalichloriden bildet, zwischen den Doppel- und komplexen Salzen zu stehen scheinen, so dürfte es auch in dieser Beziehung die Frage interessant sein, wie die Quellung in Lösungen von Doppel- oder komplexen Salzen erfolgt. Eine Beantwortung dieser Fragen behalte ich mir vor.
- g) Schließlich sind hier noch Versuche anzuführen (S. 78 bis 79, Tabelle XXXVIII, Fig. 23 bis 25), weil sie zu beweisen scheinen, daß die Quellung in einer Elektrolytkombination, in der sich das eine Salz in sehr großer (4 m-, 3 m-, 1 m-NaCl), das andere

in sehr kleiner Konzentration (${}^{m}/{}_{100}$ -MgCl₂) befindet, ebenso erfolgt, als ob das hochkonzentrierte Salz allein anwesend wäre. Aus den Kurvenbildern ist das leicht zu ersehen.

Diese Versuchsreihe ist für die Theorie der Quellungsprozesse noch nach einer anderen Richtung hin interessant. Es sei bloß der Versuch auf S. 78 bis 79 besprochen (3 m-NaCl $+ m/_{100}$ -MgCl₂). Nachdem sich beide Gelatineplatten (Doppelversuch) 97 Stunden in der betreffenden Lösung befunden hatten, wurden sie herausgenommen, gewogen, mit dest. Wasser gewaschen und in dest. Wasser (Punkt A der Kurve) gegeben. Wenn man sich auf den Standpunkt der osmotischen Theorie stellte, müßte man annehmen, daß die Gelatine nunmehr an Gewicht abnähme. Es geschieht aber gerade das Gegenteil, und zwar deshalb, weil durch die Wasseraufnahme das Salz im Innern der Gelatine verdünnt wird. Nunmehr wurde die eine Gelatine im dest. Wasser gelassen (Kurve I); die andere nach 234 Stunden wieder mit dest. Wasser gewaschen und in frisches dest. Wasser gegeben. Jetzt tritt tatsächlich eine Entquellung ein, weil der größte Teil des Salzes zwischen der 97. bis 234. Stunde aus der Gelatine ausgetreten ist (Nachweis). Während der 307. Stunde wurde das dest. Wasser wieder gewechselt. Jetzt ist noch so viel Salz in der Gelatine, daß sie, wie nach Punkt A Wasser aus dem Außenmedium aufnehmen muß. Eine quantitative Verfolgung dieser Tatsachen möchte ich mir vorbehalten.

2. Gleiches Kation, ungleiches Anion.

- a) (S. 79 bis 80, Tab. XXXIX, Fig. 26 bis 31.) In den Lösungen $^{m}/_{5}$ -NaCl + Na $_{2}$ SO $_{4}$ ($^{m}/_{5}$ bis $^{m}/_{1000}$) richtet sich die Quellung in den hohen Konzentrationen nach dem in hoher Konzentration anwesendem Glaubersalz, während die Quellung in den mittleren Konzentrationen bei der kombinierten Lösung und den einzelnen Salzen sich in gleicher Höhe befinden. Nur in der Kombination $^{m}/_{5}$ -NaCl + $^{m}/_{1000}$ -Na $_{2}$ SO $_{4}$, bei der die Quellung in der Kochsalzlösung größer ist als in der Glaubersalzlösung, schlägt die Quellung wieder den Mittelweg ein.
- b) Viel ausgeprägter ist die Beeinflussung der Quellung bei dieser Versuchsreihe: $^{m}/_{100}$ -NaCl + Na₂SO₄($^{m}/_{2}$ bis $^{m}/_{100}$) (S. 80 bis 81, Tab. XL, Fig. 32 bis 36). Die Quellung in der kombinierten

Lösung ist bedeutend kleiner als in der betreffenden Glaubersalzlösung. Die beiden Kurven verlaufen jedoch parallel: Auch in der Lösung der Elektrolytkombination erfolgt ein Maximum der Quellung beim Zusatz einer $^{\rm m}/_{100}$ -Natriumsulfatlösung zur $^{\rm m}/_{1000}$ -Kochsalzlösung.

Beim Vergleich der Kurvenbilder a) und b) scheint mir eine Tatsache für die Theorie der Quellungsvorgänge in Lösungen von Elektrolytkombinationen von Bedeutung zu sein. Eine ganz ausgeprägte Herabsetzung der Quellung in Mischung zweier Elektrolyte tritt nur dann ein, wenn das eine Salz in einer Konzentration angewendet wird, in der eine sehr niedrige Quellung erfolgt. Dies finden wir in den nächsten beiden Versuchsreihen wieder bestätigt.

- c) In der einen Versuchsreihe, in der eine $^{\rm m}/_{\rm 5}$ -Magnesium-chlorid zugleich mit wechselnden Mengen von Magnesiumsulfat ($^{\rm m}/_{\rm 2}$ bis $^{\rm m}/_{\rm 1000}$) (S. 81 bis 82, Tab. XLI, Fig. 37 bis 42) angewendet wurde, sehen wir, wie beim Fall a), daß nur große Konzentrationen des Magnesiumsulfates die Quellung in der $^{\rm m}/_{\rm 5}$ -Magnesiumchloridlösung herabdrücken können, daß aber in geringen Konzentrationen die Quellung in der Mischung ebenso hoch ist, wie in der Magnesiumlösung allein.
- d) Ist aber die Flüssigkeitsaufnahme in einem einzelnen Elektrolyten gering, wie bei der Versuchsreihe $^{\rm m}/_{100}$ -MgCl₂ + MgSO₄($^{\rm m}/_{2}$ $^{\rm m}/_{100}$), so wird auch in der kombinierten Lösung die Quellung, die im anderen Elektrolyten allein sehr hoch ausfallen würde, stark herabgedrückt (S. 83, Tab. XLII, Fig. 43 bis 47).

3. Ungleiches Anion, ungleiches Kation.

Zum Schlusse dieses Abschnittes kommen noch zwei Versuchsreihen zur Besprechung, bei denen zwei verschiedene Kationen und zwei verschiedene Anionen in Lösung waren, und zwar a) m/100-NaCl + MgSO₄ (m/2 bis m/100) (S. 84, Tab. XLIII, Fig. 48 bis 52), und b) m/100-MgCl₂ + Na₂SO₄ (m/2 bis m/100) (S. 85, Tab. LXIV, Fig. 53 bis 57). Auch in diesen beiden Fällen ist der eine Elektrolyt in solchen Konzentrationen anwesend, daß die Flüssigkeitsaufnahme von seiten der Gelatine gering ist, dadurch wird die Quellung in der kombinierten Lösung gegenüber dem anderen Elektrolyten, in dem allein eine starke Quellung

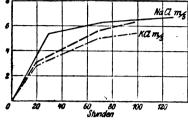
erfolgt, stark herabgedrückt. Sowohl bei a) als bei b) sehen wir in mittleren Konzentrationen ein Optimum der Quellung.

Zusammenfassung.

- In Lösungen von Elektrolytkombinationen erfolgt die Quellung der Gelatine anders als in Lösungen der einzelnen Elektrolyte.
- 2. Wird der eine Elektrolyt in einer Konzentration angewendet, in der eine starke und der andere in einer Konzentration, in der eine schwache Quellung erfolgt, so fällt die Quellung in dieser kombinierten Lösung niedriger aus, als in dem stärker quellenden und höher als in dem weniger quellenden Elektrolyten allein. Die Kurve, welche die Quellung in der Lösung der Elektrolytkombination demonstriert, verläuft beiläufig in der Mitte zwischen den Kurven, welche die Quellung in den Lösungen der einzelnen Salze kennzeichnen. Dieser allgemeine Fall erleidet dann eine Ausnahme, wenn das eine Salz in sehr großer Konzentration anwesend ist.
- 3. Werden zwei Salze in Konzentrationen kombiniert, in denen sie, einzeln verwendet, eine gleiche Quellung hervorrufen, so ist auch die Quellung in der Lösung der Kombination ebenso hoch wie in jedem einzelnen Salze.
- 4. Sind aber beide Salze in großen Konzentrationen anwesend, so verläuft die Quellung in der kombinierten Salzlösung höher als in der Lösung der einzelnen Salze, wenn auch die Quellung in den einzelnen Salzen sehr groß ist. Ist dies nicht der Fall, so liegt auch die "kombinierte" Kurve in der Mitte zwischen den Kurven der einzelnen Salze.
- 5. In den kombinierten Lösungen $^{m}/_{1000}$ -HgCl₂ + CaCl₂ ($^{m}/_{5}$ bis $^{m}/_{1000}$) quillt die Gelatine so, als ob das Sublimat gar nicht anwesend wäre (Bildung eines komplexen Salzes).

Tabelle XXXII.

m_{b} -NaCl + KCl (m_{b} bis m_{1000}).													
	∞/,	,-NaCl	+ m/s	-KCl			$m/_5$ -NaCl $+ m/_{10}$ -KCl						
St.	1	2	Q_1	Q_2	M	St.	1	2	Q_1	$Q_{\mathbf{z}}$	M		
_	1,10	1,13	_	_	_	_	1,15	1,12	_				
19	1,69	1,69	3,15	2,96	3,06	19	1,65	1,64	2,59	2,77	2,68		
6 8	2,17	2,16	5,80	5,44	5,62	68	2,11	2,09	4,98	5,17	5,08		
91	2,26	2,27	6,29	6,02	6,16	91	2,21	2,18	5,50	5,65	5,58		



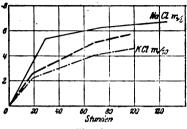


Fig. 1.

Fig. 2.

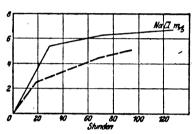


Fig. 3.

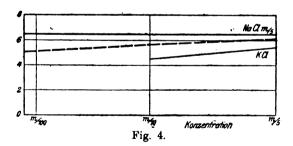
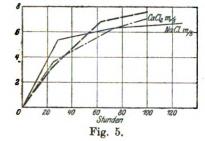
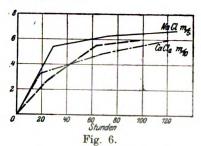


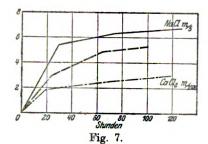
Tabelle XXXIII.

$$^{m}/_{\delta}\text{-NaCl}+(^{m}/_{\delta}\text{-CaCl}_{s}\text{ bis }^{m}/_{1000}).$$

	$^{m}/_{5}$ -NaCl $+ ^{m}/_{5}$ -CaCl ₂						$^{m}/_{5}$ -NaCl $+^{m}/_{10}$ -CaCl ₂						
St.	1	2	Q_{1}	Q_2	M					$Q_{\mathbf{s}}$			
_	1,16	1,15	_	_	_		1,16	1,14	_	_	_		
24	1,76	1,78	3.08	3,27	3,18	24	1,71	1,64	2,83	2,62	2,74		
		2,45								5,39			
		2.58				96	2,35	2,28	5.87	5,87	5,99		







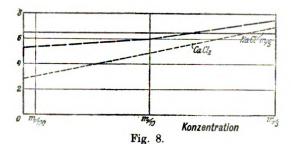


Tabelle XXXIV.

 $^{\rm m}/_{\rm 5}\text{-NaCl} + {\rm MgCl}_2\,(^{\rm m}/_{\rm 10} \text{ bis }^{\rm m}/_{\rm 200})$ Trockengewicht: 15,96 $^{\rm 0}/_{\rm 0}.$

	m/5-N	aCl+	m/2100-	MgCl		$^{\mathrm{m}}/_{5}$ -NaCl $+$ $^{\mathrm{m}}/_{200}$ -MgCl ₂						
St.	1	2	Q_1	Q_2	M	St.	1			Q_2	M	
_	1,30	1,27			_	_	1,41	1,39		_	_	
20	2,15	2,12	4,10	4,19	4,15					3,92	4.62	
77	2,40	2,34	5,30	5,28	5,29	77	2,63	2,52	5,42	5,10	5,26	
124	2,46	2,40	5,59	5,58	5,59					5,32		

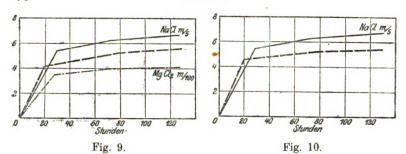


Tabelle XXXV.

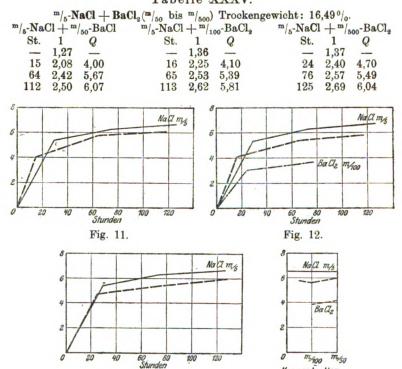
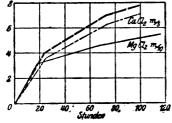


Fig. 13.

Konzentration Fig. 14.

Tabelle XXXVI.

m_{10} -MgCl ₂ + CaCl ₂ (m_{5} bis m_{1000}).														
	m/10-	\mathbf{MgCl}_{2}	+ m/5-	CaCl			$^{\mathrm{m}}/_{10}$ -MgCl ₂ + $^{\mathrm{m}}/_{10}$ -CaCl ₂							
St.	1	2	Q_1	Q_2	\boldsymbol{M}	St.		2	Q_1	Q_{8}	M			
_	1,15	1,14	_		_	_	1,16	1,17			_			
24	1,92	1,92	3,99	4,08	4,04	18	1,67	1,74	2,62	2,91	2,77			
73	2,49	2,50	6,95	7,12	7,04	66	2,21	2,24	5,40	5,46	5,43			
96	2,63	2,63	7,68	7,69	7,69	113	2,47	2,52	6,74	6,88	6,81			



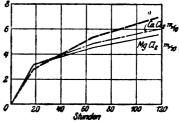
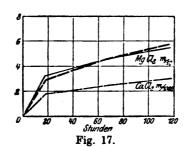


Fig. 15.

Fig. 16.



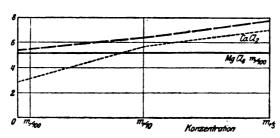


Fig. 18.

Tabelle XXXVII.

 $m/_{1000}$ -HgCl₂ + CaCl₂ ($m/_5$ bis $m/_{1000}$).

	m/ ₁₀₀₀	-HgCl	+=/6	-CaCl ₂		$^{\rm m}/_{1000}$ -HgCl ₂ + $^{\rm m}/_{10}$ -CaCl ₂							
St.	1	2	Q_{1}	$Q_{\mathbf{z}}$	M	St.	1	2	Q_1	Q_2	M		
_	1,10	1,08	_			_	1,15	1,16		_	_		
19	1,65	1,57	2,98	2,71	2,85			1,64					
6 8	2,27	2,25	6,34	6,47	6,41	66	2,12	2,14	5,03	5,04	5,04		
91	2,42	2,39	7,16	7,24	7,20	88	2,20	2,23	5,45	5,50	5,48		

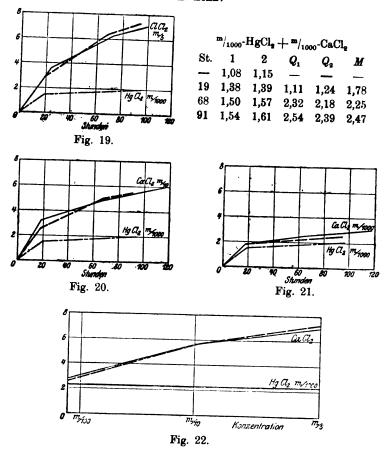
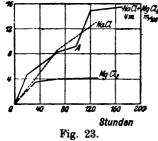
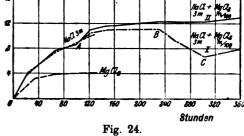


Tabelle XXXVIII. $^{m}/_{100}$ -MgCl₂ + NaCl (4 m bis 1 m).

M

	m/ ₁₀₀	-MgCl	₂ + 3 r	n-NaCl	}	$^{\mathrm{m}}/_{100}$ -MgCl ₂ $+$ 1 m-NaCl						
St.	1	2	Q_1	$Q_{\mathbf{z}}$	M	St.	1	2	Q_1	$Q_{\mathbf{z}}$	M	
97	2,77	2,71	8,16	8,73	8,45	97	2,25	2,55	6,58	7,04	6,81	
121	3,20	3,10	10,4	10,8		121	2,20	2,47	6,30	6,63	_	
146	3,27	3,26	10,7	11,7		146	2,12	2,38	5,85	6,17		
164	3,28	3,30	10,8	11,9		164	2,11	2,38	5,80	6,17		
234	3,33	3,35	11,0	12,2	_	234	2,13	2,41	5,91	6,32		
259	2,98	3,36	9,23	12,3		259	1,98	2,42	6,19	6,37	-	
307	2,51	3,34	6,83	12,2		307	2,12	2,46	5,85	6,85		
354	2,72	3,48	7,90	12,9	_	354	2,37	2,69	7,25	7,75		
									-	-		





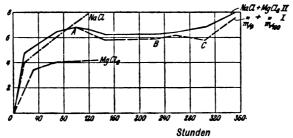


Fig. 25.

Tabelle XXXIX.

	m/ ₅ -N	iaCl+				$^{m}_{/_{5}}$ bis $^{m}_{/_{1000}}$). $^{m}_{/_{5}}$ -NaCl $+$ $^{m}_{/_{5}}$ -Na ₂ SO ₄							
St.	1	2	Q_1	Q_{s}	M	St.	1	2	Q_1	Q_2	M		
_	1,21	1,23	_	_			1,24	1.17					
29	0,69	0,69	3,41	3,35	3,38	29	2,31	2,16	5.15	5.05	5.10		
72	0,84	0,87	4,14	4,22	4,18	72	2,52	2,35	6.16	6,02	6,09		
124	0,89	0,94	4,39	4,56	4,4 8	124	2,58	2,42	6,45	6, 38	6,42		
	=/s-N	aCl +	≖/,₀-N	a.SO.			m/s-N	aCl +	™/,I	Na ₂ SO	ı		
~.	, 0	'	, 10	• • •		~.	70 -	_ '	1100		٠		

	-/5-N	acı 🕂	-/ ₁₀ -N	82004		$m_{/5}$ -NaCl + $m_{/100}$ -Na ₂ SU ₄						
St.	1	2	$Q_{\scriptscriptstyle 1}$	Q_2	M	St.	1	2	Q_1	Q_{2}	M	
	1,16	1,26		-			1,25	1,23		_		
29	2,13	2,33	4,99	5,07	5,03	29	2,28	2,24	4,90	4,90	4,90	
72	2,35	2,55	6,12	6,11	6,12	72	2,49	2,49	5,92	6.11	5,97	
124	2,42	2,64	6,48	6,49	6,49	124	2,64	2,67	6,79	6,99	6,89	

E. Lenk:

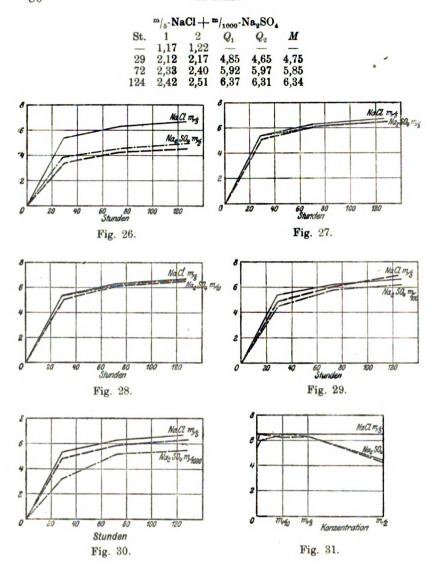


Tabelle XL.

			m	100-Na	$1 + Na_{s}$	SO ₄ (m/2	bis m	100).			
	m/100-1	NaCl -	_ m/o-N	m/100-NaCl + m/5-Na2SO4							
St.	1	2	Q_1	Q_2	M	St.		2	Q_1	Q_2	M
_	1.11	1,12	_			_	1,15	1,18	_		-
		1,58	2,47	2,45	2,46	23	1,83	1,86	3,53	3,44	3,48
		1,78			3,48	66	2,04	2,09	4,62	4,60	4,61
118	1.85	1.87	3,98	3,99	3,99	118	2,14	2,24	5,14	5, 36	5,25

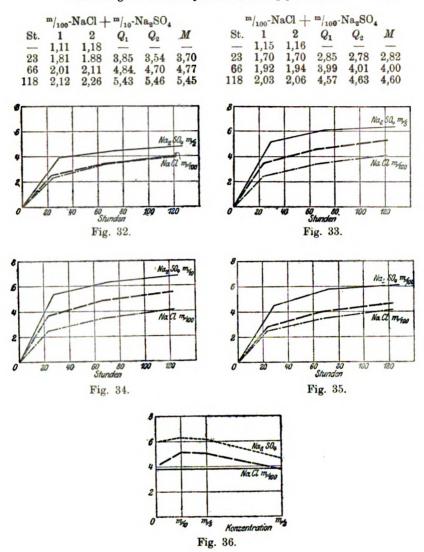


Tabelle XLI.

 ${}^{m}/_{5}$ -MgCl₂ + MgSO₄ (${}^{m}/_{2}$ bis ${}^{m}/_{1000}$). m/5-MgCl2+m/2-MgSO4 $m/_5$ -MgCl₂ $+ m/_5$ -MgSO₄ St. 2 St. 2 Q_2 M Q_1 1 1,15 1,17 1,12 1,17 23 2,06 5,76 5,01 5,39 2,65 2,60 2,30 23 1,67 1,66 2.55 65 2,81 2,57 7,73 8,36 8,05 5,89 65 2,31 2,30 5,81 5,97 114 3,08 2,82 9,74 9,06 9,40 2,55 2,53 7,14 7,09 114 7,04 Biochemische Zeitschrift Band 73.

82 E. Lenk:

Tabelle XLII.

			m/1	₀₀ -Mg(IgSO ₄ (m/	bis m	100).				
	m/10	₀ -MgC	l ₂ + m/		O ₄		$^{\mathrm{m}}/_{100}\text{-MgCl}_{2} + ^{\mathrm{m}}/_{5}\text{-MgSO}_{4}$					
St.	1	2	Q_1	Q_2	M	St.	1	2	Q_1	Q_2	M	
_	1,15	1,12	_		_	_	1,12	1,12	-	-68		
28	2,00	1,97	4,41	4,53	4,47	28	2,09	2,06	5,17	5,02	5,10	
72	2,19	2,15	5,40	5,49	5,45	72	2,20	2,22	5,75	5,86	5,81	
120	2,27	2,23	5,81	5,91	5,86	120	2,30	2,30	6,29	6,29	6,29	
	m/ ₁₀₀	$-MgCl_2$	+ m/1	o-MgS	O_4	п	/100-Mg	Cl. +	m/100-1	MgSO.		
St.	1	2	Q_1 .	Q_2	M	St.	1	2	Q_1	Q_2	M	
_	1,12	1,16		_	-	-	1,12	1,13	-	-02		
28	2,04	2,06	4,90	4,63	4,77	28	1,79	1,87	3,57	3,91	3,75	
72	2,16	2,24	5,54	5,55	5,55	72	1,93	1,97	4,32	4,43	4,38	
120	2,25	2,30	6,02	5,87	5,95	120	2,02	2,02	4,79	4,70	4,75	
8	7	-				8						
1				Mg	Say my					Mass	04 m/3	
6	+				_	6	-			rigot	1100	
		-		"	C7 -		1	2-				
4	1			Mg	CI 2 11/100	4	1			Mg Co	g m/100	
	K						1					
2	/		_	-	-	2	4					
1					1	1//						
0	20 4	0 60	80	100	120	0	20 40					
-		St	unden	700	120		20 40	Stu	80 nden	100 1	20	
		F	g. 43.						44.			
								6				
8		-										
			_	Mg	504 mg	8				T		
6	-					6				MgSL	4 mg00	
				-		0				-		
4	1			MgC	12 m/100	,,					-	
1	9.					4	1=			MgCl2	Myena	
2	1	_				2 /6					100	
1//						6						
0	20 40	- 60	80	400			- 1					
	sU 40	60 Stu	80 Inden	100 1	20	0 2	9 40	60 Stur	80	100 12	0	
			. 45.					Tri co	A.C.			
		- 18	. 10.					Fig.	40.			
				à								
				8		- /	1g SO4					
							-					
			•	6		-	-					
				,,								
				4		Mg Co	2 1/20					
			•	2								
				L								
				0 77	190 m/s	Konzentro	rtion mig					
					771	A TO CONTRACT I C						

Fig. 47.

Tabelle XLIII.

 m_{100} -NaCl + MgSO₄ (m_{2} bis m_{100}).

${}^{\rm m}/_{100}$ -NaCl $+$ MgSO ₄ (${}^{\rm m}/_2$ bis ${}^{\rm m}/_{100}$).													
	$^{\mathrm{m}}/_{100}$ -NaCl $+$ $^{\mathrm{m}}/_{2}$ -MgSO ₄						$^{\mathrm{m}}/_{100}$ -NaCl $+$ $^{\mathrm{m}}/_{5}$ -MgSO ₄						
St.	1	2	Q_1	Q_2	M	St.	1	2	Q_1	Q_2	M		
-	1,12	1,13	0 57	9.01	9.74	-	1,09	1,16	-	-	- 00		
28 72	1,79 $1,93$	1,87 $1,97$	3,57 $4,32$	3,91 4,43	3,74 4,38	28 72		2,12 2,29	5,09 5,86	4,94 5,81	5,02 5,84		
120	2,02	2,02	4,79	4,70	4,75	120		2,37	6,19	6,22	6,21		
	m/10	o-NaCl	+ m/10	-MgS(04		m/100-NaCl + m/100-MgSO4						
St.	1	2	Q_1	Q_2	M	St.	1	2	Q_1	Q_2	M		
_	1,16	1,13	_		_	_	1,15	1,16			_		
28	2,10	2,03	4,84	4,75	4,80	28		1,83	3,37	3,45	3,41		
$\begin{array}{c} 72 \\ 120 \end{array}$	2,24 2,31	$\frac{2,19}{2,27}$	5,55 5,91	$\frac{5,60}{6,02}$	5,58 5,97	72 120		1,99 2,07	4,10 4,36	4 ,27 4 ,69	4,19 4,53		
120	2,01	2,21	0,01	0,02	0,01	120	1,00	2,01	4,50	4,09	4,00		
8				T.,		8							
				Mg	SO, my				_	Mg	50 mg		
.6						6		2-	_	-			
4	/					4	1						
1	No-	1		Na	CZ myco	. 7	1			Nat	7 11/100		
2		-	-	-	-	2			-	-	-		
A STATE OF THE STA													
0	20	10 60	tunden	100	120	0	20 4	0 60	80 nden	100	120		
			ig. 48.					Fie	g. 49.				
			g. 10.					1.16	5. 10.				
8					-	8			-	-			
				My	SQu myo		1			Mast	4 TT-400		
6					_	6	1	-		-	700		
	A STATE OF THE STA					4	1 -				_		
4	//			No	ict myoo	*	1			Naci	m/100		
2	//					2	1			-			
1													
0	20	40 60	80	100	120	0	20 40	60	80	100 %	20		
			tunden						rden				
		F	ig. 50.					rig	. 51.				

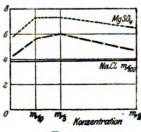
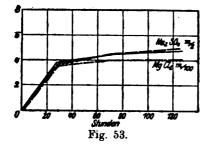


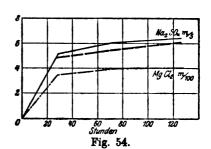
Fig. 52.

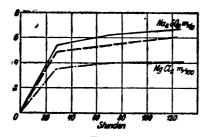
M

Tabelle XLIV.

$^{m}/_{100}$ -MgCl₂ + Na₂SO₄ ($^{m}/_{2}$ bis $^{m}/_{100}$).







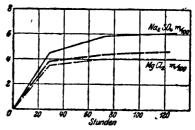
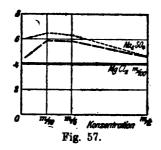


Fig. 55.

Fig. 56.



b) Bohnen.

Trotz der zahlreichen Versuche, eine verminderte Quellung in Elektrolytkombinationen zu erzielen und trotz der verschiedensten Bedingungen, war es uns dennoch unmöglich, bei diesem kohlenhydratreichen Versuchsmaterial die Ergebnisse der Gelatineversuche bestätigt zu sehen. Wir haben ja auch bei den Bohnenversuchen, bei denen die Quellung in einfachen Elektrolytlösungen erfolgte, gesehen, daß kein Zusammenhang zwischen Quellung und Konzentration gefunden werden konnte. Aus den auf den Seiten 44 bis 49 wiedergegebenen Versuchen sahen wir, wie kompliziert die Flüssigkeitsaufnahme von seiten der Bohnen erfolgt.

c) Fische.

Die Mischungen der beiden Salze wurden auf dieselbe Weise hergestellt, wie sie oben (S. 68) bei der Gelatine angegeben sind. So bedeutet also z. B. im ersten zusammenfassenden Versuche auf Seite — ${}^{m}/{}_{5}$ -NaCl + ${}^{m}/{}_{10}$ -CaCl $_{2}$, daß die Lösung in bezug auf Kochsalz ${}^{m}/{}_{5}$ und in bezug auf Chlorcalcium ${}^{m}/{}_{10}$ war.

In dieser Versuchsreihe (S. 88, Tab. XLV, Fig. 58), in der steigende Mengen von Chlorcalcium ($m/_{1000}$ bis $m/_{10}$) und zugleich eine m/s-Kochsalzlösung zur Untersuchung gelangten, sehen wir, daß geringe Chlorcalciumkonzentrationen die Giftwirkung der m/s-Kochsalzlösung (Lebensdauer 9 Stunden) völlig aufheben können, daß jedoch höhere Chlorcalciumkonzentrationen die Giftwirkung der Chlornatriumlösung verstärken. In der Kurventafel (Fig. 58, S. 88), die diese Versuchsreihe wiedergibt, sind auf der Ordinate die Konzentrationen des Chlorcalciums in der Mischung und auf der Abscisse die Lebensdauer der Fische in Stunden angegeben. Die horizontale Linie bedeutet die Lebensdauer der Fische in der m/5-Kochsalzlösung allein, in welcher Konzentration sie sich auch in der Mischung befand. Es ergibt sich bei diesem Versuche das höchst merkwürdige Resultat, daß eine so außerordentlich kleine Menge, wie sie eine $m/_{1000}$ -Chlorcalciumlösung (0,11 104 g) darstellt, die rund 100 fache Menge Kochsalz (11,70 g) völlig zu entgiften vermag.

Die zweite Versuchsreihe $^{\rm m}/_{10}$ -MgCl₂ + CaCl₂ ($^{\rm m}/_{10}$ bis $^{\rm m}/_{1000}$) (S. 89, Tab. XLVI, Fig. 59) ist etwas komplizierter. Hier bewirken mittlere Konzentrationen des Chlorcalciums eine sehr starke

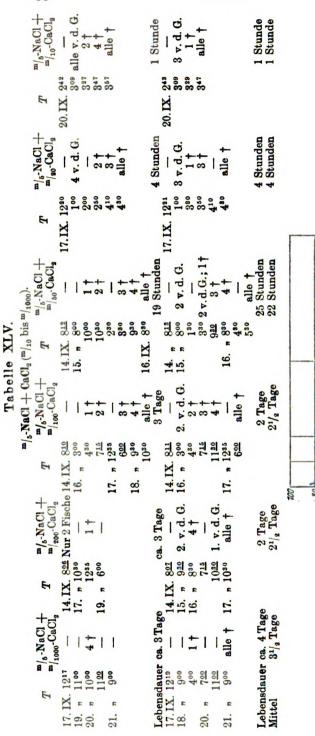
Entgiftung der Magnesiumchloridlösung, während geringe und hohe Konzentrationen des Chlorcalciums die Magnesiumchloridlösung nicht oder nur teilweise entgiften können. Niemals ist aber durch den Zusatz des Chlorcalciums (in den untersuchten Konzentrationen) zum Magnesiumchlorid eine stärkere Giftwirkung zu erzielen als in der Magnesiumchloridlösung allein. Die optimale entgiftende Wirkung liegt bei einer $^{m}/_{100}$ -Chlorcalciumlösung.

Ferner verfügen wir über eine Versuchsreihe, bei der Mischungen einer $^{\rm m}/_{1000}$ -Sublimat- und zugleich einer Chlorcalciumlösung ($^{\rm m}/_{100}$ bis $^{\rm m}/_{10}$) verwendet wurden (S. 90, Tab. XLVII, Fig. 60). Es war selbstverständlich nicht zu erwarten, daß der Zusatz des Chlorcalciums die Sublimatlösung vollständig entgiften könne, es ist aber dennoch eine Beeinflussung in der Art zu bemerken, daß wieder mittlere Konzentrationen des Calciumchlorids eine stärkere entgiftende Wirkung erzielen als niedrige oder hohe. Aus der Einheitlichkeit des Kurvenlaufes und der völligen Übereinstimmung der Doppelversuche sind Versuchsfehler vollkommen ausgeschlossen. Höchstwahrscheinlich ist die entgiftende Wirkung des Chlorcalciums auf das Sublimat wieder auf eine Komplexbildung zurückzuführen.

Schließlich seien noch 2 Versuchsreihen angeführt, in denen die entgiftende Wirkung des Chlorcalciums auf eine m/₁₀₀-(S. 91, Tab. LIV, Fig. 61) und m/₅₀₀-(S. 92, Tab. LV, Fig. 62) Eisenchloridlösung untersucht wurde. Wir sehen, daß eine verdünntere Eisenchloridlösung viel leichter zu entgiften ist als eine konzentriertere und daß bei der verdünnten Eisenchloridlösung der Optimalpunkt der Entgiftung beim Zusatz von mittleren Konzentrationen des Chlorcalciums liegt.

Zusammenfassung.

- 1. Die Toxicität eines Salzes wird durch ein anderes auf verschiedene Art beeinflußt.
- 2. Die Lösung der Elektrolytkombination kann entweder toxischer oder weniger toxisch wirken als die Lösung der einzelnen Salze. Diese Beeinflussung kann so weit gehen, daß die Giftwirkung des toxischen Salzes völlig aufgehoben wird.
- 3. Die Optimalentgiftungskonzentration eines Salzes ist bei den verschiedenen Salzpaaren verschieden.



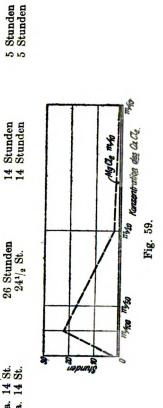
Tig. 58.

200

20

Mall mys

1, Stunden alle v. d. G. 2 † alle † 16. IX. 5 Stunden 16.IX. 957 1029 14 Stunden $^{\mathrm{m}_{/10}}$ -MgCl₂ + CaCl₂($^{\mathrm{m}_{/10}}$ bis $^{\mathrm{m}_{/1000}}$) Tabelle XLVI 20. 16. IX. Lebensdauer 2Stunden alle v. d. G. 3 3 3 3 3



18

Lebensdauer 3Stunden Mittel 21/, Stunden

Tabelle XLVII.

"\1000-HgCl ₂ + \\ \begin{align*} \	27 Minuten 28 Minuten
7 20. IX. 257 398 398 398 398 398 398 398 398	
m_{1000}^{-} HgCl ₂ + m_{20}^{-} CaCl ₂ + m_{20}^{-} CaCl ₂ + m_{20}^{-}	30 Minuten 31 Minuten
20. IX. 2866 323 323 328 328 328 328 328 328 328 328	
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	26 Minuten 27 Minuten
$\begin{array}{c} ^{m}/_{1000} \cdot \text{HgCl}_{2} - \\ ^{1000} \cdot \text{CaCl}_{2} \\ 2^{254} & \text{2 v. d. G.} \\ 2^{257} & \text{2 v. d. G.} \\ 2^{259} & \text{3 v. d. G.} \\ 3^{16} & \text{4 } \uparrow \\ 3^{20} & \text{alle } \uparrow \\ 2^{258} & \text{4 v. d. G.} \\ 2^{258} & \text{4 v. d. G.} \\ 3^{12} & \text{3 } \uparrow \\ 3^{16} & \text{4 } \uparrow \\ 3^{16} &$	21 Minuten 22 Minuten
T IX.	270
m/1000-HgCl ₂ + m/1000-GaCl ₂ = 250	Lebensdauer 17 Minuten Mittel
T 20. IX. Lebens 20. IX.	Lebens Mittel

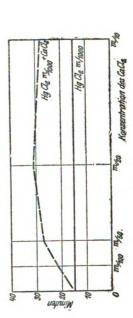


Fig. 60

2 St. 06 Min 19. IX. 284 318 19. IX. 286 19.IX.10⁵⁸ __ 12⁴⁵ 3 v. d. G. alle † 2 St. 39 Min. St. 53 Min. St. 46 Min. 2 v. d. G. $^{m}_{/500}$ -FeCl₂ + CaCl₂ ($^{m}_{/10}$ bis $^{m}_{/1000}$). Tabelle XLVIII 2 St. 33 Min. St. 44 Min. St. 39 Min. 1230 1 v. d. G. 2 St. 19 Min. 2 St. 20 Min. 2 St. 21 Min. 2 v. d. G. 19. IX. 1047 1118 2 v. d. G.; exheb.sichgleich Lebensdauer 19. IX. 1046 Lebensdauer Mittel 1145 1216 1246 1246

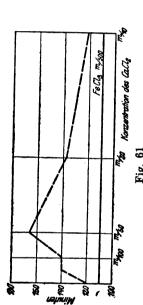


Tabelle XLIX.

2			E. Lenk				
	-TB	184 3 + 148 alle +	2St. 19Min. 11°0 — 11°0 — 11°4 alle †	1 St. 56 Min. 2 St. 08 Min.			
	",100-FeCl ₃ + ",20-CaCl ₂ " " " " " " " " " " " " " " " " " " "		18.IX.1138 1235 2 v. d. G. 110 110 3 † 1134 117 4 † 1134 125 alle †	1 St. 49 Min. 1 St. 50 Min.			
m/ ₁₀₀₀).	CaCl ₃ +	1235 3 v. d. G. 105 4 † 116 alle †	1 St. 40 Min. 1 v. d. G. 4 † alle †	1 St. 39 Min. 1 St. 40 Min.		Fells myon	me
$_{100}$ -FeCl ₃ + CaCl ₂ (m / $_{10}$ bis m / $_{1000}$).	$_{\rm m}^{100}\text{-FeCl}_{2}^{+}+T$ $_{\rm m}^{100}\text{-CaCl}_{2}^{-}+T$ $_{\rm m}^{-}$	125 2 V. d. G. 125 120 14 † 121 121 121 121 121 121 121 121 121 1	St. 43 Min. 2 v. d. G. 3 v. d. G. 1 † alle †	1 St. 42 Min. 1 St. 43 Min.			m.c. m.c.
B	7 18.1X	10°° Z V. d. G. 10⁴⁴ alle v. d. G. 11²º alle †	3. IX. 955 1055 2 v. d. G. 1211 1044 alle v. d. G. 1255 1150 alle + 105	1St. 41 Min. 1St. 42 Min.	ost reduniti	000	7111
	+50	27 13	11 *** alle † Lebensdauer I St. 17 Min. 18. IX. 93** — 18. 10** 2 v. d. G. 10** 4 v. d. G. 10** 1 † 10** 2 v. d. G.	1120 alle † Lebensdauer I St. 44 Min. Mittel I St. 31 Min.			

Fügen wir zu unseren Versuchen die anderer Autoren hinzu, so haben wir schon früher aus Jaques Loebs Arbeiten zitiert, daß die verschiedensten Elektrolyte imstande sind, die Giftwirkung einer Kochsalzlösung zum Teil aufzuheben. Ebenso können Lösungen von Salzen mit zweiwertigem Metall durch ein- oder zweiwertige entgiftet werden. Alle diese Versuche und die anderer Autoren lassen sich vollkommen ungezwungen meinen Versuchen anreihen. Was den Antagonismus zwischen ungleichen Anionen und gleichen Kationen anbelangt, so ist derselbe von Loeb angezweifelt worden¹). Es ist in dieser Beziehung eine Arbeit von A. Moore²) bekannt, in der er der giftigen Wirkung von Kochsalz auf Kaulquappen und Moskitolarven durch Natriumsulfat entgegenwirken konnte.

Ein Vergleich der Versuche der Lösungen von Elektrolytkombination an Wassertieren mit unseren Gelatineversuchen ergibt in vielen Fällen eine höchst auffallende Parallelität. Schon beim Vergleich der Versuche mit einzelnen Elektrolyten an Fischen und Gelatine konnte mitgeteilt werden, daß zwischen Quellung der Gelatine und Lebensdauer der Fische ein Zusammenhang derart zu bestehen scheint, daß 1. in der Lösung eines Salzes von der Konzentration, in der die Quellung der Gelatine nur sehr gering war, auch Fische sehr lange lebten und umgekehrt (selbstverständlich mit Ausnahme der Schwermetallsalze), und 2. daß die Kationenreihe, wie sie die Quellungsversuche ergaben, in Parallele zu setzen sind mit den Kationenreihen, wie sie sich bei den Fischversuchen herausstellten.

Auch bei unseren jetzt zu vergleichenden Versuchen mit Elektrolytkombination ist ein Zusammenhang zwischen Quellung der Gelatine und Lebensdauer der Fische unverkennbar. Hier wie dort wird die Lösung eines Elektrolyten durch die eines andern in dem Sinne beeinflußt, daß eine schwachwirkende Salzlösung eine starkwirkende in ihrer Wirkung sehr beeinträchtigen kann.

¹) J. Loeb, Physiologische Ionenwirkung in Oppenheimers Handbuch der Biochemie des Menschen und der Tiere, 2, 1, 123, 1910.

⁸) A. Moore, Amer. Journ. of Physiol. 7, 315, 1902.

94 E. Lenk:

Es soll in dieser Arbeit — und dies sei besonders betont — niemals behauptet werden, daß alle Eigenschaften der Elektrolytlösungen bzw. der Elektrolytkombinationen, wie sie an Wassertieren, Pflanzen usw. beobachtet wurden, bloß mit einer Beeinflussung der Quellung der Biokolloide in Zusammenhang zu bringen sind. Es ist jedenfalls aber unverkennbar, daß Lebensdauer und Lösungszustand der Biokolloide in irgendeiner Weise von einander abhängen. Die chemischen Eigenschaften der Salze scheinen nicht von großer Bedeutung zu sein, sie dürfen aber auch hier nicht außer acht gelassen werden.

Theorien der Salzwirkung.

Es sei mir nun gestattet, die Theorien der Salzwirkung zusammenzustellen. Man kann aus der Fülle der Ansichten unschwer 3 Gruppen von Theorien unterscheiden, die sich zum Teil sehr schroff gegenüberstehen:

- a) Physikalische Theorien.
- b) Chemische Theorien (Theorie der physiologischen Ionenwirkung).
- c) Kolloidchemische Theorien.

a) Physikalische Theorien.

Es wurden in dieser Richtung zwei Ansichten ausgesprochen, um die Frage zu beantworten, welche Kräfte der Zelle zu Gebote stehen, sich der Salzwirkungen zu erwehren, und welche Mittel die Zelle besitzt, Wasser in sich aufzunehmen bzw. dasselbe abzugeben.

Die Schule der Pathologen und älteren Physiologen war der Ansicht, daß der Druck der zirkulierenden Flüssigkeit (Blut, Lymphe) die Aufnahmefähigkeit der Gewebe für Wasser bedinge. Diese Autoren machten den einen Fehler, daß sie ihre Hypothesen, die doch nur für Tiere mit einem ausgesprochenen Zirkulationsapparat gelten konnten, verallgemeinerten. Schwerwiegend mußte gegen diese Hypothese ins Gewicht fallen, daß sämtliche Versuche, die Wassermengen der Gewebe durch eine künstliche Blutdrucksteigerung zu vermehren, negativ verliefen. Und dann ist es doch, wie aus den Versuchen unserer Arbeit

über die Totenstarre hervorgeht¹), außerordentlich leicht möglich, ohne zirkulierende Flüssigkeit einen Muskel zu veranlassen, sehr viel Wasser in sich aufzunehmen (z. B. durch Eintauchen in eine verdünnte Säurelösung).

Allgemeiner als diese Drucktheorie?) ist die osmotische Theorie 8), die es sich zur Aufgabe stellt, die Wasseraufnahmebedingungen der Gewebe bei allen Organismen zu studieren. Es ginge natürlich zu weit, alle physiologischen Untersuchungen anzuführen, die die klassischen Arbeiten eines Pfeffer, Hugo de Vries und van t'Hoff ins Leben riefen. Alle Arbeiten gipfelten in der Ansicht, daß der osmotische Druck der umgebenden Flüssigkeit für die Wasseraufnahme der Gewebe maßgebend ist. Weitere Arbeiten ergaben jedoch, daß die einfachen Gesetze des osmotischen Druckes für lebende Gewebe in den seltensten Fällen Geltung haben (z. B. Elektrolytkombinationen, destilliertes Wasser), daß vielmehr die Zelle die Stoffaufnahme auf eigenartige Weise reguliert. Man könnte vielleicht die Zellpermeabilität dadurch erklären, daß man sich die Plasmahaut als Molekülsieb vorstellt, das bloß durch seine Porenweite größeren oder kleineren Molekülen Eintritt in Zellen gewährt⁴). Die Unzulänglichkeit dieser Hypothese konnte jedoch dadurch bewiesen werden, daß z.B. einige Substanzen von hohem Molekulargewicht sehr leicht in Zellen eindringen (Alkaloide), während andere von niedrigem Molekulargewicht (Aminosäuren) nicht permeabel sind. Auf Grund dieser Tatsachen nahm man nun an, daß die Permeabilität abhängig sei von der Löslichkeit der Substanzen in der Zellmembran.

Diese für nicht organisierte Membrane zuerst von Nernst⁵) ausgesprochene Ansicht wurde von Overton⁶) auf organisierte Zellen ausgedehnt. Aus der Aufnahmefähigkeit von Zellen für bestimmte Farbstoffe und Stoffe, die in Fetten oder fettartigen

¹⁾ M. H. Fischer, Das Ödem, Dresden, Verl. Steinkopf.

²⁾ H. J. Hamburger, Osmotischer Druck und Ionenlehre.

^{*)} v. Fürth und E. Lenk, l. c.

⁴⁾ M. Traube, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1867, 87.

⁵⁾ W. Nernst, Zeitschr. f. physikal. Chem. 6, 37, 1890.

⁶⁾ Overton, Vierteljahrschr. d. Naturf. Ges. Zürich 1899, 44; Studien über die Narkose, Jena 1901.

Substanzen leicht löslich sind, gelangte er zum Schlusse, daß die einzelnen Zellen von einer fettartigen, lipoiden Membran umgeben sein müssen, die dafür sorgt, daß nur lipoidlösliche Stoffe in die Zellen eindringen können, während lipoidunlöslichen Substanzen der Eintritt in die Zellen versagt bleibt. Eine gewaltige Literatur hat sich diesem Probleme gewidmet, und schier unermeßlich ist das Beweismaterial, das zur Beantwortung dieser Frage dient. Bei Pflanzen, Eizellen, Muskeln, Blutkörperchen usw. wurden die osmotischen Eigenschaften geprüft, und immer wieder resultierte, daß lipoidlösliche Stoffe sehr schnell in die Zellen eindringen können. In der Narkosetheorie von Hans Horst Meyer¹) fand die Lipoidtheorie eine ausgezeichnete Bestätigung.

Leider macht uns die Lipoidtheorie nicht verständlich, wie anorganische Salze oder im allgemeinen wasserlösliche Substanzen in die Zelle eindringen können, da doch Lipoide in Wasser unlöslich sind. Mit Recht sagt Loeb²), daß es nach der Lipoidtheorie unbegreiflich sei, wie in den pflanzlichen Zellen eine Eiweißsynthese erfolgen könne. Cohnheim³) weist darauf hin, daß nach Overtons Annahme die Resorptionsverhältnisse im Darmkanale unverständlich bleiben, da beim Verdauungsprozesse sämtliche Stoffe in eine wasserlösliche Form übergeführt werden.

Man muß jedenfalls annehmen, daß die Zellmembran nicht nur aus Lipoiden bestehen kann, sondern daß "Diffusionshindernisse in Gestalt beschränkt permeabler Membrane in der Oberfläche der Zellen existieren"4). Man könnte vielleicht die Ansicht Nathansons 5) begreiflich finden, nach der die Plasmahaut aus lebenden Proteinstoffen und in Wasser unquellbaren Lipoidteilchen (z. B. Cholesterin) mosaikartig aufgebaut sei. Die basischen Farbstoffe und Anästhetica könnten dann nur durch die Lipoidteilchen, also rein physikalisch, mit einer nur durch den Verteilungsquotienten (Fett: Wasser) bestimmten Geschwindigkeit

¹⁾ Hans H. Meyer, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 42, 109, 1899.

^a) J. Loeb, Oppenheimers Handb. d. Biochem. 2, 1, 105, 1910.

³⁾ O. Cohnheim, Die Physiologie d. Verdauung u. Ernährung, 1908.

⁴⁾ R. Höber, Physikalische Chemie d. Zelle u. d. Gewebe, 1911.

⁵) Nathanson, Jahrb. f. wiss. Botan. 39, 607, 1904.

in die Zellen eintreten, völlig unbeeinflußt von der lebenden Substanz. Die lipoidunlöslichen Stoffe, wie anorganische Salze Zucker usw., werden jedoch regulatorisch von den lebenden Teilchen der Plasmahaut beeinflußt. Wenn auch Lepeschkin¹) diese Mosaiktheorie verwirft und die Plasmahaut aus Eiweiß und Lipoiden zusammengesetzt ansieht, die sich in lockerer chemischer Bindung befinden sollen, so ist trotz der morphologisch unbewiesenen Tatsache der Schluß berechtigt, daß die Stoffaufnahme nicht rein physikalisch zu erklären ist, wie dies Overton oder Loeb annimmt, sondern daß vielmehr die Zelle auch über Einrichtungen verfügt, die höchstwahrscheinlich in der Plasmahaut ihren Sitz haben und die eine selektive Aufnahme der verschiedensten Stoffe ermöglichen.

Jedenfalls wurde aber angenommen, daß der osmotische Druck des Außenmediums den wichtigsten Faktor für die Stoffaufnahme bedeute und daß bloß der osmotische Druck einer Salzlösung ein Maß ihrer Giftigkeit sei.

b) Chemische Theorien.

Es sei nunmehr der Versuch gewagt, die Theorien der physiologischen Ionenwirkung zusammenzustellen. Wohl als erster hat James Blake²) (im Jahre 1839) versucht, die Wir, kungen der anorganischen Salze auf die lebende Materie zu erklären. Die Wirkungen der intravenös eingeführten Lösungen der anorganischen Salze sind so zu verstehen, daß sie nur vom Metall abhängen und daß isomorphe Salze bzw. solche, die sich im periodischen System sehr nahe stehen, ähnliche physiologische Wirkungen entfalten. Innerhalb der isomorphen Gruppe steigt die Giftigkeit mit der Höhe des Atomgewichtes des Metalls Das Anion ist für Blake von gar keiner Bedeutung. Auf Blakes Untersuchungen fußend haben Bouchardat und Cooper³) beweisen können, daß auch die Wirkungen der Halogene mit ihrem Atomgewicht derart zusammenhängen, daß sie sich mit

¹⁾ Lepeschkin, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 29, 181, 1911; 30, 528, 703, 1912 usw.

²) James Blake, Compt. rend. Jahrg. 1839; Proc. Roy. Soc. 14, 394, 1841; Americ. Journ. of Science and Arts, 1874, 7.

⁸⁾ Bouchardat und Cooper: L. Brunton, Handb. d. Pharmakol. 1893. 31.

dem Ansteigen des Atomgewichtes abschwächen. Bei den zweiwertigen Metalloiden steigert sich jedoch die Wirkung mit der Zunahme des Atomgewichtes. Erst Richet 1) hat eine Kritik dieser Theorien versucht, indem er bei seinen Untersuchungen über die tödliche Dosis der verschiedenen Metallchloride für das Froschherz und für Fische keinen Zusammenhang zwischen Atomgewicht und Giftigkeit der Metalle feststellen konnte. Allerdings ist zu beachten, daß bei bestimmten Metallgruppen die letale Dosis in Gramm mit dem Atomgewicht steigt. Man muß bedenken, daß Richet zu seinen Schlüssen früher kam. als van t'Hoff die Lehre vom osmotischen Druck schuf (1886). Richet nahm an, daß die Giftigkeit eines Salzes mit seiner Löslichkeit zusammenhänge. Trotz dieser Untersuchungen hielt Blake dennoch an seiner Meinung fest und wurde darin noch von anderen Autoren bestärkt. Jedenfalls sind alle diese Studien dadurch interessant, daß sie zum erstenmal versuchen, die physikalische Chemie in den Dienst der Pharmakologie zu stellen.

Als die Salzlösungen nach den klassischen Untersuchungen von Arrhenius als binäre Gemische ihrer Ionen aufgefaßt wurden, war auch die Lehre von der elektrolytischen Dissoziation in die Physiologie eingedrungen, und die Wirkung der Salze auf den tierischen Organismus wurde durch die Salzwirkung selbst und zugleich durch die Wirkung ihrer Ionen erklärt (Schmiedeberg²). Es waren vor allen Jaques Loeb, Wolfgang Pauli, Richards und Mathews, die hier bahnbrechend vorgingen. Loeb³) behauptete im Jahre 1899, daß die ins lebende Gewebe diffundierenden Ionen 'sich mit irgendeinem Bestandteil des Gewebes verbinden, um es mehr oder weniger chemisch zu verändern. Er konnte nachweisen, daß die Wasseradsorption von Muskeln in verschiedenen Lösungen Ähnlichkeiten habe mit der Wasseradsorption von verschiedenen Alkali- und Erdalkaliseifen und bestimmte Ionen auch bestimmte Reaktionen hervorrufen (Erregbarkeit, Sekretion). Diese Untersuchungen

¹⁾ Richet, Compt. rend. 101, 667, 707.

²) Schmiedeberg, Lehrb. d. Pharmakologie, S. 375 ff.

³⁾ J. Loeb, Festschr. f. Prof. Fick, Braunschweig 1899, 101; Arch. f. d. ges. Physiol. 75, 303, 1899.

gipfelten in der Aufstellung der Theorie der Ionproteide 1) (1900), die als Erklärungsprinzip für seine angenommene Verbindung der Ionen mit dem Gewebe dienen sollte. Damit zusammenhängend hat auch T. W. Richards 2) eine Theorie der Geschmacksempfindung derart aufgestellt, daß sich die Elektrolyte mit dem Eiweiß der affizierten Gewebe verbinden. Man kann sich mit Loeb den Antagonismus von Neutralsalzen so vorstellen, daß sich die Salze gegenseitig im Gewebe sehr leicht ersetzen können, derart, daß sich ein Gewebe, das z. B. in einer Magnesiumchloridlösung irgendeine Eigenschaft zeigt, die beim Zusatz einer Chlorcalciumlösung verloren geht, sich deshalb so verhält, weil sich darin folgende Reaktion abspielen soll:

$$Mg$$
-Protein + $CaCl_2$ = Ca -Protein + $MgCl_2$ 8).

Ein Schwermetallsalz ist nach dieser Ansicht deshalb giftig, weil das Schwermetall-Proteinprodukt unlöslich ist und die Reaktion so übereinstimmend mit dem Massenwirkungsgesetz vollständig verläuft. Damit im Zusammenhang hat W. A. Osborne diese Verhältnisse in vitro studiert.

Auf Grund der Loebschen Arbeiten hat dann Wolfgang Pauli sogar Reaktionsgleichungen für derartige Vorgänge aufzustellen versucht; es sei nur an eine Gleichung aus Handovskys "Fortschritte" erinnert:

$$R \underbrace{\stackrel{\mathrm{NH_2} \swarrow_{\mathrm{OH}}}{\mathrm{COON_a}}}_{\mathrm{COON_a}} + KCl \xrightarrow{\longrightarrow} R \underbrace{\stackrel{\mathrm{NH_2} \swarrow_{\mathrm{Cl}}}{\mathrm{COON_a}}}_{\mathrm{COON_a}} + H_{\mathtt{q}}O.$$

Dergleichen vorzeitige Hypothesen scheinen mir von gar keinem Wert zu sein, da sie nicht nur viel zu verfrüht sind, den Vorgängen ganz und gar nicht Rechnung tragen und nur verwirrend wirken. Anschauungsunterricht ist hier nicht am Platze, und einen anderen Wert können doch diese Formeln nicht haben. In welcher Form die Neutralsalze in den Geweben existieren, ist vorläufig vollkommen indiskutabel, ob man diese Art als Adsorptionsverbindung oder mit Wil-

¹⁾ J. Loeb, Americ. Journ. of Physiol. 3, 327, 1900.

⁹) T. W. Richards, Americ. Chem. Journ. 20, 121, 1898; Journ. of Physic. Chem. 4, 207, 1900.

⁶) Loeb, Journ. of Biolog. Chem. 1, 427, 1906.

helm Ostwald und Franz Hofmeister als Verbindung mit mechanischer Affinität nennt. Niemals aber darf man annehmen, und dies sei besonders betont, daß die Vorgänge zwischen Geweben und Neutralsalzen stöchiometrisch verlaufen oder irgendwie rein chemisch vor sich gehen.

Während uns die Lipoidtheorie die selektiven Kräfte der Zelle verständlich machen will, muß sie bereits zur Beantwortung der Frage, wie wasserlösliche, also physiologisch äußerst wichtige Stoffe in die Zelle eindringen, derart modifiziert werden, daß man der Zellmembran hypothetisch eine mosaikartige oder dergleichen Struktur verleiht, die, morphologisch unbewiesen, sich den Tatsachen anzupassen sucht. Aber auch die Annahme einer freien Diffusibilität für Salze, wie dies Loeb1) oder Hamburger aus ihren Untersuchungen folgern, bleibt uns unverständlich; die selektive Auswahl der Gewebe für Mineralstoffe bleibt unerklärt. Wie schon oben angedeutet, können wir diese Widersprüche nicht durch eine "organische Bindung" der Salze an das Eiweiß erklären. Es konnte ja Rudolf Höber durch seine Kapazitäts-2) und Dämpfungsmethode⁸) die Leitfähigkeit im Zellinnern messen und dadurch zum Resultate gelangen, daß mindestens ein Teil der Salze in anorganischer Form frei in der Zelle enthalten sein muß.

Der Ionenproteidtheorie stellt sich eine rein physikalische von Mathews⁴) entgegen, die, auf der Hardy-Schulzeschen Regel basierend, sich die Untersuchungen von Loeb, Hardy, Robertson, Billitter usw. zunutze macht, indem die chemische Reizung eines Gewebes auf eine Neutralisation der elektrischen Ladung seines Eiweißes zurückgeführt wird:

"Die Ionen der anorganischen und organischen Salze im Protoplasma sind nichts weiter als sehr kleine, frei sich bewegende Elektrolyte. Sie reizen daher konstant das Protoplasma vermittels ihrer Ladungen. Dieselben Gesetze gelten für die Wirkung dieser Ionen, wie für die Wirkung von Elek-

¹⁾ J. Loeb, Oppenheimers Handb. d. Biochem. 2, 1, 105, 1910.

²) R. Höber, Arch. f. d. ges. Physiol. 133, 237, 1910.

⁸⁾ R. Höber, Centralbl. f. Physiol. 24, 801 u. 830, 1910.

⁴⁾ A. P. Mathews, Amer. Journ. of Physiol. 10, 290, 1904; 11, 237, 455, 1904; 14, 203, 1905; 18, 58, 1907.

troden, d. h. die entgegengesetzt geladenen Ionen haben entgegengesetzte Wirkungen; das positive Ion hemmt die meisten Protoplasmaformen, das negative reizt sie. Ebenso wie bei einer Elektrode die chemische Zusammensetzung der Elektrode von geringer Bedeutung ist, ebenso ist die chemische Zusammensetzung des Ions im Vergleich zu der Bedeutung seines elektrischen Zustandes von geringer Bedeutung."

Zur Begründung seiner Theorie wählte er als praktisches Beispiel die Reizung des Nervus ischiadicus des Frosches mit bestimmten Salzlösungen und folgerte aus seinen Untersuchungen, daß die Kationen den Nerven hemmen, während ihn die Anionen reizen. Ja, er stellt sogar eine Formel zur Berechnung der 'nreizenden" Kraft eines Neutralsalzes auf:

$$\pi = a D \frac{\sqrt{\frac{2}{a} \left[E c + \frac{0,057}{n} \lg \frac{1}{c} \right] W_c^{\frac{1}{2}}}}{\sqrt{\frac{2}{c} \left[E a + \frac{0,057}{n} \lg \frac{1}{c} \right] W_a^{\frac{1}{2}}}},$$

in der π die reizende" Kraft des Neutralsalzes, a seinen Dissoziationsgrad, D seinen Diffusionskoeffizient, Ea und Ec die Wanderungsgeschwindigkeit seines Anions bzw. Kations, Ea und Ec die Lösungsspannung des Anions und Kations, c die Salzkonzentration, W_a und W_c das Äquivalentgewicht des Anions und Kations bedeuten. Übersteigt π einen bestimmten kritischen Wert, so reizt das Neutralsalz das Gewebe, und umgekehrt. Mathews' Hypothese versagte jedoch, als man seine π-Werte an verschiedenen Geweben prüfte, indem schon z. B. aus den Versuchen Grützners1), Maxwells usw. hervorging, daß sich die Reihenfolge der Salze, wie sie Mathews aufstellte, bei jeder Gewebsart ändere. Auch eine antagonistische Beeinflussung der Neutralsalze ist auf Grund dieser Theorie unverständlich. Ein Salzantagonismus wäre denkbar, wenn zwei Salze mit stark differierenden π-Werten gemischt würden. Ein Parallelismus zwischen antagonistischen Wirkungen und den π -Werten der Salze ist nicht aufzufinden. So hat z. B. Loeb2) gezeigt, daß das randkörperlose Zentrum von Dolyorchis in einer Kochsalzlösung ($\pi=2,63$) entweder durch Zusatz von Bariumchlorid ($\pi = 2,70$) oder von Chlorcalcium ($\pi = 1,322$) zum Schlagen gebracht werden kann. Eine strenge Kritik der Mathewsschen Theorie lieferte Berg3).

c) Kolloidchemische Theorien.

Einen Zusammenhang zwischen den Eigenschaften der Elektrolytlösungen und den Kolloiden, auf die sie wirken, ver-

¹⁾ P. Grützner, Arch. f. d. ges. Physiol. 53, 83, 1893; 58, 69, 1894.

²) Loeb, Journ. of Biolog. Chem. 1, 427, 1906.

Andere Beispiele: Osterhout, Univ. of California Publ. Botany 2, 317, 1907; Botanical Gazette 45, 117, 1908.

⁸⁾ W. N. Berg, New York Med. Journ., July 1907.

suchte zuerst Jaques Loeb, indem er zu zeigen versuchte, daß die entgiftende Wirkung der zweiwertigen Kationen auf einwertige mit der Regel von Schulze und Hardy in Beziehung zu bringen ist, wonach die Fällungskraft eines Salzes eine Funktion seiner Wertigkeit sei. Mit Recht kritisiert Höber¹) diese Ansicht Loebs, da die Schulze-Hardysche Regel nur an einfachen Elektrolyten studiert wurde und deshalb auch nicht unbedingt für Elektrolytkombinationen gelten müsse und zum Vergleich nur die spärlichen Beobachtungen von Linder und Picton am Arsensulfid und von Pauli am Eiweiß herangezogen werden könnten.

Neben der Wertigkeit kommt noch ein anderes Moment in Betracht:

Aus den Untersuchungen von Bechhold³), Neisser und Friedemann³) besteht ein Zusammenhang zwischen der verschiedenen Fähigkeit zweiwertiger Salze, Eiweißstoffe auszuflocken und dem elektrolytischen Lösungsdruck der Kationen. Das Fällungsvermögen der Kationen nimmt nach der Reihe Hg > Pb > Cu > Cd > Ni > Co > Ba > Mg ab, während sich die elektrolytischen Lösungsdrucke nach der Reihe Hg > Cu > Pb > Ni > Co > Cd > Mg > Ba ordnen. Im selben Jahre hat Mathews⁴) bei seinen Studien an Funduluseiern festgestellt, daß die Fähigkeit eines Schwermetallsalzes, dem Kochsalz entgegenzuwirken, mit dem elektrolytischen Lösungsdruck der Kationen im Zusammenhang stehe.

Schließlich ist die Adsorptionsfähigkeit der Salze als Grund für ihre Giftwirkung ins Feld geführt worden. Es gebührt Wolfgang Ostwald⁵) das Verdienst, zum ersten Male gezeigt zu haben, daß sich Giftigkeit und Konzentration einer Salzlösung in eine Beziehung bringen lassen, die mathematisch faßbar ist. Trägt man in einem Koordinaten-

¹⁾ R. Höber, Physikal. Chem. d. Zelle u. d. Gewebe 1911, 436 f.

²⁾ Bechhold, Zeitschr. f. physikal. Chem. 48, 406, 1904.

³⁾ Neisser und Friedemann, Münch. med. Wochenschr. Nr. 19, 1904.

⁴⁾ Mathews, Americ. Journ. of Physiol. 10, 290, 1904 an Fundulus heterochitus; 11, 455, 1904 an motorischen Froschnerven. — Kahlenberg und True, Botanical Gazette 22, 1, 1896. — Heald, ebenda 22, 135, 1896 an Pflanzenkeimlingen.

b) W. Ostwald, Arch. f. d. ges. Physiol 120, 19, 1907.

system auf der Abscisse die Lebensdauer der Versuchsobjekte (Gammarus) in Minuten und auf der Ordinate die Konzentration der Salzlösung, so erhält man Kurven wie sie bei Adsorptionserscheinungen beobachtet wurden. Denn trägt man die Logarithmen der Variabeln der Abscisse und Ordinate auf, so ist die Verbindungslinie der einzelnen Punkte eine Gerade. Die Adsorptionsisotherme $a = Kc^m$, worin a die absorbierte Menge in Gramm, c die Konzentration bedeuten und a und m als Konstanten fungieren, wurde von Ostwald so angewendet, daß die adsorbierte Menge (a) der Giftigkeit (Lebensdauer) gleichgesetzt wurde. Daraus ergibt sich die Gleichung

$$\frac{1}{t} = Kc^m \quad \text{oder} \quad K_1 = tc^m,$$

in der t die Lebensdauer bedeutet.

In einer späteren Arbeit 1) wurde diese Formel durch

$$\frac{1}{t} = K(c-n)^m$$

ersetzt, worin n einen positiven Salzgehalt des Außenmediums vorstellt, "der in enger Beziehung zu den normalen, in den Geweben des lebenden Tieres vorkommenden Salzmengen stehen muß". Dieser Faktor mußte deshalb eingeführt werden, weil sich für große Verdünnungen ständige Abweichungen gegen die einfache Adsorptionsformel zeigten. Extrapoliert man diese zweite Ostwaldsche Formel auf die Konzentration 0, so muß man als "salzfreies" Wasser, wie Ostwald glaubt, das natürliche annehmen, weil das "völlig salzfreie Wasser... stark giftig ist". Nun haben wir bei unseren Versuchen wiederholt gesehen, daß dies unrichtig ist, daß also dieser neu eingeführte, von Ostwald theoretisch begründete Faktor, praktisch unnötig ist. Mit Recht konnte Robertson²) die Adsorptionstheorie Ostwalds kritisieren, die die Unabhängigkeit der Vorgänge von der chemischen Zusammensetzung der Phasen postulierte. Er führt dafür den Versuch von Madsen und Nyman⁸)

¹⁾ W. Ostwald und A. Dernoschek, Kolloidzeitschr. 6, 297, 1910.

²) B. Robertson, Kolloidzeitschr. 3, 75, 1908.

³⁾ Th. Madsen und M. Nyman, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. 57, 388, 1907; Comm. de l'Institut Sérothérapeutique de l'Etat Danois 2, 107, 1908.

104 E. Lenk:

ins Feld, die die Methode von Paul und Krönig¹) benutzten und den Einfluß der Immersionszeit und der Temperatur auf die Lebensdauer von Bakteriensporen in bestimmten Lösungen untersuchten.

Dadurch konnte gezeigt werden, daß die keimtötende Wirkung mit einem chemischen Vorgang zusammenhänge, da die Beziehung zwischen Zeit und Anzahl der zerstörten Sporen für eine monomolekulare Reaktion charakteristisch sei. Nun ist aber von Robertson nicht berücksichtigt worden, daß bei den Versuchen von Madsen und Nyman die Konzentration nicht als Variable fungiert, wie dies bei den Ostwaldschen Versuchen der Fall ist. Dazu kommt noch, daß die monomolekulare Geschwindigkeitsgleichung nicht unbedingt einem chemischen Vorgange entsprechen muß, daß sie vielmehr die Newtonsche Geschwindigkeitsformel darstellt, der eine Unzahl von Phänomenen folgen wie Quellungs- und Auflösungsvorgänge usw. Speziell für die letzteren wurde durch die Arbeiten von A. Noyes und R. Whitney²) festgestellt, daß zum Beispiel für die Auflösung von Benzoesäure in Wasser die Formel $\frac{dx}{dt} = C(S - x)$ gilt, in welcher S die zur Sättigung nötige, xdie zurzeit bereits gelöste Menge und C einen Proportionalitätsfaktor bedeutet. Auch andere Lösungsprozesse, wie die Auflösung von Marmor in Säuren, sind so zu behandeln.

Aber auch die Auffassung Wolfgang Ostwalds, nach der die Giftwirkung eines Salzes einem Adsorptionsprozeß entsprechen müsse, wenn die Resultate der Versuche der Adsorptionsisotherme genügen, ist nur mit Vorbehalt anzunehmen. Denn es kann z. B. auch das Gesetz der Massenwirkung durch die Adsorptionsgleichung ausgedrückt werden. Gegen diese Auffassung der Identität des Adsorptions- und chemischen Gleichgewichtes wird angeführt, daß die chemischen Gleichgewichte daher die Konstanten (Gleichgewichts- und Reaktionsgeschwin-

¹⁾ Krönig und Paul, Zeitschr. f. Hygiene 25, 1, 1897. — Morawitz, Kolloidchem. Beihefte 1, 301, 1910.

^{*)} A. Noyes und R. Whitney, Zeitschr. f. physikal. Chem. 23, 689, 1897. — Nernst, Theoretische Chemie, 5. Aufl., S. 578, 1907. — Nernst-Schönflies, Einführung in die mathematische Behandlung der Naturwissenschaften, 4. Aufl., S. 154, 1904.

digkeit) und die Zahl der in Reaktion tretenden Molekeln spezifisch sind, während dies bei den Adsorptionsgleichgewichten nicht der Fall ist. Anhänger der chemischen Theorie sind Bemmelen, Duclaux und T. Brailsford Robertson. Trotz der Schwierigkeit der Auffassung der Adsorption als chemischen Vorgang können dennoch diese beiden Phänomene, und so auch noch manche andere (z. B. Verteilung eines Stoffes zwischen zwei Lösungsmittel, Quellung) demselben mathematischen Ausdruck gehorchen. Es ist also, wie dies Wolfgang Ostwald tat, nicht entsprechend die Giftwirkung von Salzlösungen als Adsorptionsvorgänge zu deuten, wenn sie auch der Adsorptionsgleichung gehorchen.

Wir dürfen uns bei der Aufstellung irgendeiner Theorie der Giftwirkungen anorganischer Salze nicht vorstellen, daß hier entweder nur chemische oder nur physikalische Prozesse vor sich gehen; wir müssen vielmehr annehmen, daß beide parallel laufen. Schon Lillie 1) hatte an seinen Studien über den Einfluß von Elektrolytgemischen auf die Cilienbewegung der Larvenform des Meeresanneliden Arenicola und an dem Kiemenepithel von Mytilus edulis bemerkt, daß reine Salzlösungen die Cilien verflüssigen, Salzkombinationen dagegen dieser Verflüssigung entgegenarbeiten. Es hat sich auch hier ergeben, daß Ladungssinn, Lösungstension und Wertigkeit mit der antagonistischen Fähigkeit eines Salzes zusammenhängen, daß aber spezifische, also wahrscheinlich rein chemische Funktionen der betreffenden Salze zutage treten. So sagt denn Höber resümierend: "Unbefriedigend ist diese Theorie der Salzwirkungen, welche die Giftwirkung auf Störung der normalen Kolloidkonsistenz, die Entgiftung durch Salzkombinierung auf antagonistische Beeinflussung der Kolloide zurückführt, nur insofern, als die Alkalisalze und die Mehrzahl der Erdalkalisalze (inkl. MnCl₂) physiologische Antagonisten sind, obwohl jene wie diese in reinen Lösungen Schwellung verursachen. Ja die Erdalkalisalze sind sogar weitaus am besten dafür geeignet, die Schädlichkeit etwa einer reinen isotonischen Kochsalzlösung zu beseitigen."

Meine Untersuchungen haben nun nachweisen können, daß

¹) R. S. Lillie, Americ. Journ. of Physiol. **5**, 56, 1901; **7**, 25, 1902; **10**, 419, 1904; **17**, 89, 1906.

sich die Wirkung der Salzlösungen zunächst in einer Zustandsänderung der Kolloide äußert. Das Unerklärliche, das der antagonistischen Ionenwirkung bis nun anhaftete, konnte auf einfache Quellungsvorgänge zurückgeführt werden, die es uns auch begreiflich machen können, wieso Alkalisalze und Erdalkalisalze physiologische Antagonisten sein können, obzwar beide Arten von Salzen Quellung hervorrufen.

Dabei mußten vorläufig die Fragen unbeantwortet bleiben, von welchen Faktoren die Quellung überhaupt abhänge. Einschlägige Versuche, die von mir in dieser Richtung vorgenommen wurden, will ich in einer späteren Publikation mitteilen.

Jedenfalls haben die mitgeteilten Versuche das eine wichtige Ergebnis gezeitigt, daß die antagonistischen Ionenwirkungen als Kolloidphänomene zu deuten sind und nichts mit osmotischen Druckvorgängen, die additiv verlaufen müßten, zu tun haben. Daß die antagonistischen Ionenwirkungen nicht bei jedem Versuchsmaterial gleichmäßig verlaufen, spricht für spezifische Eigenschaften der betreffenden Kolloide.

Zum Schlusse sei es mir gestattet, Herrn Dr. Kuppelwieser für sein Zuvorkommen, mich in seiner biologischen Station arbeiten zu lassen, und Herrn Dr. Hugo Brach für seine freundliche Mithilfe bestens zu danken.

Ist das Kaliumion an der Eiweißsynthese in der Pflanzenzelle beteiligt?

Von

Julius Stoklasa.

(Aus der Chemisch-physiologischen Versuchsstation an der k. k. böhm. techn. Hochschule Prag.)

(Eingegangen am 16. November 1915.)

Ich habe die Bedeutung des Kaliumions bei der Dynamik der Kohlensäureassimilation in meiner Arbeit "Über die photochemische Synthese der Kohlenhydrate unter Einwirkung der ultravioletten Strahlen") genau präzisiert. Es ist gewiß von großer Bedeutung, zu erfahren, ob dem Kaliumion auch bei dem Aufbau der Eiweißstoffe eine wichtige Rolle zugewiesen ist, nachdem der Aufbau der Kohlenhydrate mit der Eiweißsynthese in genetischem Zusammenhange steht.

In neuester Zeit wurde von Weevers²) die Ansicht geäußert, daß das Kaliumion einen großen Einfluß auf die Eiweißsynthese in der Pflanze ausübt, ohne dabei zu erwähnen, daß

¹⁾ Julius Stoklasa und Wenzel Zdobnický, Photochemische Synthese der Kohlenbydrate aus Kohlensäureanhydrid und Wasserstoff in Abwesenheit von Chlorophyll. Diese Zeitschr. 30, 6. Heft, 1911. — Julius Stoklasa, Johann Šebor und Wenzel Zdobnický, Über die photochemische Synthese der Kohlenhydrate unter Einwirkung der ultravioletten Strahlen. Diese Zeitschr. 41, 5. Heft, 1912. — Julius Stoklasa und Wenzel Zdobnický, Photochemische Synthese der Kohlenhydrate aus Kohlensäureanhydrid und Wasserstoff in Anwesenheit von Kaliumhydroxyd, in Abwesenheit von Chlorophyll. Sitzungsber. d. Wien. Akad. d. Wissensch., mathem.-naturw. Kl. 119, Abt. II b, Okt. 1910. — Julius Stoklasa, Emanuel Senft, Franz Stranák und W. Zdobnický, Über den Einfluß der ultravioletten Strahlen auf die Vegetation. Sitzungsber. d. Wien. Akad. d. Wissensch., mathem.-naturw. Kl. 120, Abt. I, 1. März 1911.

²⁾ Th. Weevers, Rec. d. trav. bot. Neerland 8, 289, 1911.

dem Kaliumion die Hauptfunktion bei der photosynthetischen Assimilation der Kohlensäure zufällt. Vielfach hat man aus seinem bevorzugten Vorkommen in wachsenden eiweißreichen Organen auf seine Mitwirkung bei der Synthese der Eiweißstoffe geschlossen. Nach Weevers ist also anzunehmen, daß die Hauptfunktion des Kaliums bei dem Aufbau der neuen lebenden Substanz in der Eiweißsynthese zur Geltung kommt.

Die Ansichten Weevers fanden merkwürdigerweise einen ziemlich großen Anklang. Ich verweise hier auf die Arbeit Beneckes: "Stoffwechsel der Pflanzen"), der sich dieser Meinung anschloß.

Über die Synthese der Eiweißstoffe wurde eine große Anzahl von Versuchen angestellt; solange man aber die Konstitution der Eiweißstoffe nicht kennt, ist es schwer, sich über die Synthese der hochmolekularen Verbindungen, die durchwegs kolloidaler Natur sind, ein klares Bild zu verschaffen.

Schon Sachs²) und Hanstein³) haben angenommen, daß die Eiweißsynthese hauptsächlich in den Blättern vor sich geht. Zu denselben Anschauungen gelangten in späteren Arbeiten Hornberger und Emmerling. Obgenannte Forscher sind der Meinung, daß die Erzeugung des Eiweißes in den Blättern erfolgt, in denen die von dem Transpirationsstrom mitgerissenen Ammoniak- und salpetersauren Salze mit den Kohlenhydraten des Assimilationsprozesses zusammentreffen. Als Material für den Aufbau der Eiweißstoffe werden Aminosäuren und Kohlenhydrate angesehen. In allen Pflanzenorganen, in denen die Eiweißsynthese vor sich geht, werden diese beiden Stoffgruppen mobilisiert.

Man kommt nun zur Erkenntnis, daß die Anschauungen über die Abhängigkeit der Eiweißbildung von äußeren Faktoren nicht in voller Harmonie stehen. Einige Forscher behaupten, daß die Nitrate ohne Licht in den grünen Pflanzen reduziert werden können und ihr Stickstoff bei dem Eiweißaufbau Verwendung finden kann, was namentlich von Emmerling⁴), Dehérain⁵), Hansteen⁶), Kinoshita⁷), Mazé⁵),

¹⁾ Benecke, Stoffwechsel der Pflanzen. Handwörterbuch d. Naturwissenschaften 9, 1913.

²) Sachs, Bot. Ztg. 1862, 363; siehe auch desselben Forschers Handb. d. experim. Physiol. d. Pflanzen, S. 28.

^{*)} Hanstein, Einige Züge aus der Biologie des Protoplasmas. Bonn 1880.

⁴⁾ A. Emmerling, Studien über die Eiweißbildung in den Pflanzen. Landwirtschaftl. Versuchsstation 34, 1887.

⁵) Dehérain, Traité de Chimie agricole, 3e édition, Paris 1902.

⁶⁾ Hansteen, Über die Eiweißsynthese in den grünen Phanerogamen. Jahrb. f. wissensch. Botanik 33.

⁷⁾ Kinoshita, Chem. Centralbl. 1896, I, 116.

⁸⁾ Mazé, Chem. Centralbl. 1899, I, 530.

Pfeffer, Suzuki¹), Zaleski³) usw. konstatiert wurde. Ich konnte wie Boussingault tatsächlich beobachten, daß die Blätter, die im Dunkeln auf einer Lösung von Zucker und Nitraten schwimmen, ihren Eiweißgehalt stark vermehren, daß sie also bei Aufnahme der beiden Stoffe die Synthese auszuführen imstande sind. Diese grundlegenden Erfahrungen, die zum erstenmal Boussingault³) gemacht hat, wurden durch zahlreiche Arbeiten, namentlich durch jene von Zaleski, bestätigt.

Bei der Photosynthese entstehen als erste Assimilationsprodukte die Hexosen. Daß die Bildung von Hexosen mit der Eiweißsynthese in einem gewissen Zusammenhange steht, kann nunmehr als sicher angenommen werden. Die Hexosen sind als plastisches Material für die Eiweißsynthese zu betrachten. Die Stickstoffverbindungen, namentlich Nitrate und Ammoniak, können bei absoluter Dunkelheit zur Eiweißbildung beitragen, vorausgesetzt, daß die zu dieser Synthese erforderlichen Kohlenhydratarten zur Verfügung stehen. Ich stimme Zaleski und Suzuki ganz bei, daß die eigentliche Assimilation von Nitratund Ammoniumion in der grünen Pflanzenzelle kein photochemischer Vorgang ist.

Eine andere Anzahl von Forschern äußerte sich dagegen dahin, daß in der chlorophyllhaltigen Zelle die Eiweißsynthese durch den Einfluß des Lichtes viel intensiver verläuft als im Dunkeln, ja sogar, daß ohne Einwirkung des Lichtes die Eiweißsynthese überhaupt nicht stattfindet.

Emil Godlewski⁴) publizierte in den Jahren 1897 und 1903 sehr interessante Arbeiten, davon eine betitelt "Zur Kenntnis der Eiweißbildung aus Nitraten in der Pflanze". Aus seinen ersten Untersuchungen geht hervor, daß, wenn die Keimpflanzen in einer salpeterhaltigen Nährstofflösung gezogen werden, im Dunkeln wie im Lichte (schwaches Licht des Laboratoriums) eine bedeutende Anhäufung der Nitrate in den Pflänzchen eintritt. Auch bei den höheren Pflanzen ist die Bildung der Proteinstoffe auf Kosten der Nitrate nicht unmittelbar an den Assimilationsprozeß gebunden. Die Bildung der Eiweißstoffe auf Kosten der Nitrate ist bei den Keimlingen unter gewöhnlichen Bedingungen ohne Lichtwirkung unmöglich. Die Proteinstoffe bilden sich in der Pflanze nicht unmittelbar aus Nitratstickstoff und stickstoffreien organischen Verbindungen, sondern zunächst werden gewisse nichtproteinartige Ver-

¹⁾ Suzuki, On the formation of proteids and the assimilation of nitrates by phanerogams in the absence of light. Bulletin of the College of Agriculture of the Imperial University 3, No. 5, 3484, Tokyo 1898.

³) Zaleski, Zur Kenntnis der Eiweißbildung in den Pflanzen. Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 15, 1897. — Derselbe, Zur Keimung der Zwiebel von Alium Cepa und Eiweißbildung. Ebenda 16, 1898.

⁸) Boussingault, Agronomie, Chimie agricole et Physiologie, 8 volumes, Paris 1860—1891.

E. Godlewski, Zur Kenntnis der Eiweißbildung aus Nitraten in der Pflanze. Akad. d. Wiss. Krakau, März 1897.

bindungen gebildet, die erst weiter sich zu Eiweißstoffen umwandeln. Diese intermediären nichtproteinartigen Stickstoffverbindungen können sich in den Keimpflanzen auf Kosten der Nitrate auch im Dunkeln bilden; ihre Umbildung zu Proteinstoffen erfolgt aber nur im Lichte.

Emil Godlewski lieferte im Jahre 1903 einen weiteren Beitrag zur Kenntnis der Eiweißbildung in den Pflanzen1), wobei er fand, daß das Licht die Stickstoffassimilation und Eiweißsynthese bei den höheren Pflanzen einerseits indirekt begünstigt, indem es die Kohlensäureassimilation durch die Pflanze bewirkt und dadurch das stickstoffreie Baumaterial für die Eiweißsynthese schafft, anderseits direkt, indem es der Pflanze die für das Zustandekommen der Stickstoffassimilation und der Eiweißsynthese nötige Energie liefert. Sofern die Stickstoffassimilation und die Eiweißsynthese bzw. Eiweißregeneration ohne Mitwirkung des Lichtes eintreten, wird die für diesen Prozeß nötige Energie durch die bei dem Stoffwechsel bzw. bei der Atmung freiwerdenden Kräfte geliefert. Bei den höheren Pflanzen findet eine ausgiebigere Eiweißsynthese im Dunkeln nur dann statt, wenn den betreffenden Zellen stickstoffreie, im Stoffwechsel begriffene plastische Stoffe reichlich zu Gebote stehen, d. h. wenn die Lebensbedingungen der eiweißbildenden Zellen sich denjenigen der Pilze nähern. Unter den nichteiweißartigen Stickstoffverbindungen, die in den 3 wöchentlichen Weizen- und Gerstenkeimlingen auftreten und teils durch Eiweißspaltung, teils als intermediäre Produkte der Eiweißsynthese auf Kosten der anorganischen Stickstoffverbindungen entstehen, sind Aminosäureamide (in erster Linie Asparagin) am reichlichsten vertreten; etwa die Hälfte des gesamten Stickstoffs des Nichteiweißes ist in der Form der Aminosäureamide vorhanden. Die Aminosäuren und die mit Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffverbindungen sind in wechselnder und in der Regel geringer Menge vorhanden. Außer diesen drei Gruppen der nichteiweißartigen Stickstoffverbindungen finden sich in den Keimpflanzen in wechselnder, bedeutender Menge noch andere, zu keiner dieser Gruppen gehörende Stickstoffverbindungen.

In Übereinstimmung mit Godlewski hat Wäsniewski³) gefunden, daß durch einen begünstigenden Einfluß des Lichtes sowohl die Bildung der Eiweißstoffe wie auch die Assimilation des mineralischen Stickstoffs viel energischer verläuft. Dieser begünstigende Einfluß des Lichtes tritt um so deutlicher hier zutage, in je weiterem Entwicklungsstadium sich die Pflänzchen befinden.

Die von Godlewski ausgesprochenen Ansichten fanden vollen An-

¹⁾ Emil Godlewski, Zur Kenntnis der Eiweißbildung in den Pflanzen. Bull. de l'Acad. des sciences de Cracovie, Juni 1908.

²) S. Wásniewski, Der Einfluß der Temperatur, des Lichtes und der Ernährung mit Stickstoff und Mineralstoffen auf den Stoffwechsel in den Keimpflanzen des Weizens. Extrait du Bull. de l'Acad. des sciences de Cracovie 1914.

klang in den Arbeiten von Nedokutschaeff¹) sowie in Palladins²) Abhandlung "Einfluß des Lichtes auf die Bildung von stickstoffhaltigen Substanzen in den Geweben der Pflanzen", worin letzterer behauptet, daß in Gegenwart von Saccharose die Synthese von Proteinsubstanzen im Lichte bedeutend schneller erfolgt als im Dunkeln. Auch Sapoznikoff³) fand, daß die Eiweißbildung auf Kosten der Kohlenhydratbildung bei Belichtung gesteigert wird. Dieser Anschauung hat sich Kosutany⁴) angeschlossen.

Laurent, Marchal und Carpiaux⁵) haben durch ihre Experimente in der Tat nachgewiesen, daß das Licht die Eiweißbildung in der grünen Pflanze ungemein unterstützt. Namentlich die Strahlen von kürzerer Wellenlänge und höherer Brechbarkeit, also die violetten und ultravioletten Strahlen, befördern die Eiweißsynthese.

Nach den weiteren Untersuchungen von Laurent und Marchal⁹) sind die ultravioletten Strahlen für die Eiweißsynthese in der chlorophyllhaltigen Zelle von ungeheurer Bedeutung und kann eine Eiweißbildung ohne ultraviolette Strahlen nicht erfolgen. Daß sich auch in den Blüten, speziell in den Geschlechtsorganen Eiweißstoffe unter dem Einfluß des Lichtes bilden, ergeben die Untersuchungen von Sachs⁷) und Klebs⁹). Die Experimente von Ciamician und P. Silber⁹) zeigten, daß die violetten und ultravioletten Strahlen eine ganze Reihe von wichtigen chemischen Lichtreaktionen bei dem Aufbau neuer lebender Pflanzenmaterie hervorrufen.

Ausführliche Studien über die katalytischen Reaktionen des Sonnenlichtes, welche für Biologen größtes Interesse bieten, wurden von

¹⁾ Nedokutschaeff, Über die Speicherung der Nitrate in den Pflanzen. Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 21, 431 bis 435, 25/11 (28/8) 1903.

^{*)} W. Palladin, Influence de la lumière sur la formation de matières proteïques actives etc. Extrait de la Revue générale de Botanique 2, 1899.

³⁾ Sapoznikoff, Chem. Centralbl. 1896, I, 930.

⁴⁾ Kosutany, Chem. Centralbl. 1897, I, 107.

⁵) Laurent, Marchal et Carpiaux, Recherches expérimentales sur l'assimilation de l'azote ammoniacal et nitrique par les plantes supérieures. Extrait du Bull. de l'Acad. Roy. Belgique 32, 1896.

⁶⁾ Laurent, Marchal, Recherches sur la synthèse des substances albuminoides par les végétaux. Bruxelles 1903.

⁷⁾ J. Sachs, Über die Wirkung der ultravioletten Strahlen auf die Blütenbildung. Arbeiten des botan. Inst. in Würzburg 3, Heft 3, S. 372. 1887.

^{•)} G. Klebs, Über den Einfluß des Lichtes auf die Fortpflanzung der Gewächse. Biolog. Centralbl. 13, Nr. 21/22, 1893.

⁹⁾ C. Ciamician und P. Silber, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 1902, III, 3593.

Carl Neuberg¹) ausgeführt. Er zeigte, daß das Licht ein Agens ist, das in wirksamer Weise den Ab-, Um- und Aufbau in den Organismen zu beeinflussen vermag. Dem Streben, die Kluft zu überbrücken, die zwischen den überaus langsamen Wirkungen des Lichtes in vitro auf organische Stoffe und seinen vehementen bei physiologischen Vorgängen besteht, entsprangen die Versuche Neubergs, die darauf abzielten, Katalysatoren für die Beschleunigung biochemisch wichtiger Lichtreaktionen ausfindig zu machen.

Aus diesen umfangreichen Versuchen ergab sich die in biologischer Hinsicht bedeutungsvolle Tatsache, daß die Sonnenbestrahlung und selbst das diffuse Tageslicht die photochemischen Effekte unter dem Einflusse der metallischen Katalysatoren kräftig herbeiführen und dabei die an sich ganz lichtunempfindlichen Systeme ausgesprochen photosensibel machen.

Ferner hat Neuberg in seinen phytochemischen Reduktionen als Erster darauf verwiesen, daß die gärende Hefe imstande ist, zugesetztes Nitrobenzol und andere Nitrokörper in beträchtlichem Umfange zu reduzieren. Damit ist zum erstenmal die phytochemische Umwandlung der Nitrogruppe zur Aminogruppe in durchsichtigen Beispielen experimentell durchgeführt worden.

In einem gewissen Widerspruch mit den Untersuchungsergebnissen von Laurent, Marchal, Carpiaux sowie von Ciamician und Silber stehen jene von Strohmer und Stift²). Strohmer und Stift stellten nämlich über den Einfluß der einzelnen Lichtfarben auf das Wachstum der Zuckerrübe Versuche an, aus denen hervorgeht, daß auch die Zuckerrübe, ebenso wie dies bereits für zahlreiche andere Pflanzen dargetan wurde, zur Erzeugung ihrer organischen Substanz in erster Richtung der Mitwirkung des gelben Lichtes, also der sogenannten leuchtenden Strahlen bedarf und für den genannten Prozeß der Mitwirkung des violetten und ultravioletten Lichtes, also der chemischen Strahlen vollständig entbehren kann.

Daß die reinen violetten und ultravioletten Strahlen bei längerer

¹⁾ Carl Neuberg, Chemische Umwandlungen durch Strahlenarten I. Mitteilung: Katalytische Reaktionen des Sonnenlichtes. Diese Zeitschr. 13, 1908. II. Mitteilung: Wirkungen des elektrischen Gleichstromes. Ebenda 17, 1909. IV. Mitteilung: Katalytische Wirkungen des Sonnenlichtes in Gegenwart anorganischer Substanzen. Ebenda 29, 1910. V. Mitteilung: Ebenda 39, 1912. — Carl Neuberg und Ernst Welde, Phytochemische Reduktionen. I. Umwandlung der Nitrogruppe in die Aminogruppe. Diese Zeitschr. 60, 1914. II.: Umwandlung aliphatischer Nitrokörper in Aminoverbindungen. Ebenda, 62, 1914. — C. Neuberg und A. Galambos, Zur Biochemie der Strahlenwirkungen. I. Über die Art der Beziehungen zwischen der Wirkung mineralischer Katalysatoren und fluoreszierender Farbstoffe. Diese Zeitschr. 61, 1914.

⁹) F. Strohmer und A. Stift, Über den Einfluß der Lichtfarbe auf das Wachstum der Zuckerrübe. Österr.-ungar. Zeitschr. f. Zuckerindustrie u. Landw. 1904, 1. Heft.

und intensiver Einwirkung einen schädlichen Einfluß ausüben, wurde durch meine Arbeiten genügend dokumentiert. Ganz anders verhält es sich bei einer kurzen und schwachen Bestrahlung, wo sich ein günstiger Einfluß geltend macht, welche Strahlen für die Photosynthese unentbehrlich sind.

Über den Verlauf des Prozesses bei dem Eiweißaufbau wurden verschiedene Hypothesen ausgesprochen. Erwähnt seien hier bloß jene von Bach 1), Baudisch und Mayer 2), Erlenmeyer 3), H. Franzen 4), Gautier 5), Oskar Loew 6), Schulze 7), Treub 3), Trier und Winterstein 2).

Von den zahlreichen Hypothesen führe ich bloß jene von Oskar Baudisch und Erwin Mayer an.

Oskar Baudisch und Erwin Mayer äußern sich darüber folgendermaßen:

"Nitrite spalten ebenso wie die Nitrate im Lichte Sauerstoff ab, und bei dieser Reaktion sind hauptsächlichst die ultravioletten Strahlen wirksam. Durch Belichtung von alkoholischen bzw. aldehydischen Kaliumnitritlösungen entstehen intermediär die entsprechenden Hydroxamsäuren. Durch längere Belichtung solcher Lösungen erhält man nach dem Verschwinden von Nitrit und Hydroxamsäure aminartige und höhere, wahrscheinlich ringförmige stickstoffhaltige Verbindungen. Dadurch wurde zum ersten Male Nitrat- bzw. Nitritstickstoff in organische Stickstoffverbindungen durch bloße Sonnenenergie umgewandelt, ein Prozeß, der sich auch in der Pflanzenzelle abspielen kann, da der grünen Pflanze die dazu notwendigen Faktoren Nitrat, Formaldehyd und Sonnenlicht in ausgiebigem Maße zur Verfügung stehen."

Gemäß meinen Untersuchungsergebnissen kann ich mich mit Grafe¹⁰), Zaleski, Suzuki, Hansteen usw. einverstanden erklären, daß die Eiweißsynthese keine reine photochemische

¹⁾ Bach und Chodat, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 35 ff.

²⁾ Oskar Baudisch und Erwin Mayer, Photochemische Studien zur Nitrat- und Nitritassimilation. Zeitschr. f. physiol. Chem. 89, 1914.

⁸) Erlenmeyer und Kunlin, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **85**, II, 2438.

⁴⁾ H. Franzen, Sitzungsber. d. Heidelberger Akad. d. Wiss. 1910, Abh. 9.

b) A. Gautier, Leçons de Chimie biologique, 2. édit., Paris 1897.

⁹ Oskar Loew, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 23, 675; Die chemische Energie der lebenden Zelle, Stuttgart 1906.

⁷⁾ E. Schulze, Landw. Versuchsstationen 56, 97, 293, 1902.

⁵) Treub, Ann. du Jardin Botanique de Buitenzorg 2. sér. 4, 86 bis 147.

⁹⁾ E. Winterstein und G. Trier, Die Alkaloide, 1910.

¹⁰) Viktor Grafe, Einführung in die Biochemie für Naturhistoriker und Mediziner. Verlag Franz Deuticke, Leipzig und Wien 1913.

Reaktion ist, sondern daß sie auch ohne Einwirkung des Lichts bei Anwesenheit von Kohlenhydraten und Nitratsowie Ammoniumion oder molekularem Stickstoff und bei Gegenwart aller Nährstoffe erfolgen kann. Durch die Reduktionsprozesse entstehen wahrscheinlich Aminosäuren, die als Grundlage für den Aufbau der Eiweißstoffe dienen. Die Resorption des Nitratund Ammoniumions sowie die Kohlensäureassimilation müssen in der chlorophyllhaltigen Zelle als zwei ineinandergekoppelte Prozesse angesehen werden. Jedenfalls werden die Nitrate über Nitrite zu Ammoniak reduziert und dieses mit Kohlenstoffketten zu stickstoffhaltigen Substanzen zusammengefügt. Daß durch das Licht die Eiweißsynthese bei den höheren Pflanzen begünstigt wird, läßt sich damit erklären, daß durch das Licht die für die Eiweißsynthese nötige Energie geliefert wird.

Das klarste Bild, wie der Aufbau der Eiweißsynthese auch ohne Licht vor sich gehen kann, gewinnt man entschieden bei der Kultur der Bakterien in einem Nährmedium, wo verschiedenartige abbaufähige Kohlenhydrate und organische Säuren vorhanden sind, bei Gegenwart von Nitration und allen anderen anorganischen Nährstoffen. Man sieht da ganz deutlich, wie die einzelnen Kohlenhydrate und organischen Säuren auf den Eiweißaufbau einen großen Einflußausüben.

Ich habe die Eiweißsynthese bei den Bakterien mit meinem Mitarbeiter Eugen Vitek verfolgt und hierzu verschiedene Mikrobenarten gewählt: Als stickstoffhaltige Nährquelle diente in allen Fällen bloß das Natriumnitrat und von den Kohlenstoffnährquellen entweder die Kohlenhydrate, und zwar von den Hexosen d-Glucose, d-Lävulose, d-Galaktose, von den Pentosen l-Arabinose und l-Xylose oder die organischen Säuren: Buttersäure, Valeriansäure, Milchsäure, Bernsteinsäure, Äpfelsäure usw., die allerdings vorher mittels kohlensaurem Natron bis zur neutralen Reaktion neutralisiert wurden.

Es befanden sich daher in der Lösung von den kohlenstoffhaltigen Nährmedien immer nur eine von den angeführten organischen Säuren oder Kohlenhydraten vor. Was die Menge der verwendeten Nährmedien betrifft, so kommen auf 1000 ccm Wasser folgende Nährstoffquantitäten in Betracht: 2 bis 2,5 g Kohlenstoffnährquelle (Kohlenhydrat oder neutralisierte organische Säure) und 2 g Natriumnitrat als Stickstoffnähr-

quelle neben organischen Nährsalzen, die in nachfolgend angegebenen Mengen hinzugefügt wurden:

1,25 g K₂HPO₄
0,20 g K₂SO₄
0,05 g CaCl₂
0,05 g MgCl₂
0,10 g Na₂CO₃
0,05 g FePO₄.

Die Kolben, die zu den Versuchen verwendet wurden, Nach gründlicher Sterilisation und nach faßten 2300 ccm. Ablauf des Inkubationsstadiums wurden dieselben mit den einzelnen Bakterienarten, und zwar mit Kulturen aus den angeführten Nährmedien geimpft und mindestens durch 30 Tage unter vollständigem Ausschluß des Tageslichtes in der Brutkammer bei einer Temperatur von 28 bis 30°C belassen. Die Impfung erfolgte stets mit einer gleichmäßigen Menge von Kulturen (5 ccm). Die Menge der Salpetersäure, salpetrigen Säure und des Ammoniaks, sowie die des organischen Stickstoffs, die in dem Nährmedium enthalten war, wurde durch die Analyse genau festgestellt. Die Äußerungen der vitalen Prozesse mancher Mikrobenarten, besonders wenn die Nährlösung als Kohlenstoffnährquelle manche Kohlenhydrate, wie Galaktose oder Lävulose, enthielt, schritten so langsam vorwärts, daß nach der angegebenen Zeit von 30 Tagen, wie ich mich an den ersten Versuchen überzeugt habe, überhaupt keine Veränderung des Natriumnitrats wahrzunehmen gewesen ist. Deshalb wurden die geimpften Kolben mancher Spezies bei späteren Versuchen eine längere Zeit in der Brutkammer gelassen und dann erst analysiert. Nach der oben angedeuteten Frist wurden die Kolben der Reihe nach geöffnet und ihr Inhalt der Analyse unterworfen. In erster Linie wurde der Stickstoff bestimmt, und zwar in folgenden Formen:

- a) als Ammoniak,
- b) als salpetrige und Salpetersäure und
- c) in organischer Form.

Bei der Analyse wurde in nachstehender Weise vorgegangen:

Der Inhalt des Kolbens wurde nach dem Versuche auf 2000 cem verdünnt. Von dieser 2000 cem betragenden Flüssig-

keit wurden 500 ccm zur Bestimmung des Ammoniaks abgemessen, und zwar erfolgte diese entweder durch Destillation mit MgO oder nach der Methode Baumann-Böhmer in der Weise, daß eine Portion von 500 ccm der oben erwähnten verdünnten Flüssigkeit von 2000 ccm sehr schwach mit Phosphorsäure angesäuert im Wasserbade bis auf einen kleinen Rest eingedampft und dieser in ein Becherglas abgespült wurde, so daß derselbe etwa 100 ccm betrug. Aus dieser Lösung wurden die vorhandenen Eiweißkörper nach der Methode Stutzers gefällt, d. i. dieselbe bis zum Sieden erhitzt, dann ihr etwa 3 ccm Alaun hinzugefügt und nach teilweiser Abkühlung 5 ccm Kupferoxydhydrat [enthaltend 0,3 bis 0,4 g Cu(OH), zugegossen. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert und mit Wasser durchgewaschen. Das Filtrat, das eine schwach saure Reaktion zeigte, wird neuerdings bis auf etwa 50 ccm abgedampft und demselben 50 ccm Schwefelsäure (1:1) und 80 ccm phosphorwolframsaures Natron (200 g) Natriumwolframat und 120 g Natriumphosphat gelöst in 1000 ccm Wasser hinzugefügt. Dieses Gemisch wird auf 60° erwärmt und auf die Dauer von 48 bis 72 Stunden unter eine Glasglocke gestellt. Der sich bildende Niederschlag wird auf dem Filter aufgefangen und nach erfolgtem Waschen mit verdünnter Schwefelsäure (Verdünnungsverhältnis 1:2) samt dem Filter in einen Destillationskolben gebracht und mit Magnesiumoxyd destilliert. In einem Quantum von 500 ccm der Lösung, die zur Feststellung der salpetrigen und Salpetersäure bestimmt waren, wird vorerst ebenfalls das Ammoniak mittels Destillation mit Natronlauge bestimmt. Allerdings gibt die Destillationsmethode mittels Natronlauge etwas höhere Resultate, weil durch diese Destillation teilweise die in der Lösung vorhandenen stickstoffhaltigen Substanzen gespalten werden. Die Differenz zwischen dem Stickstoff, der in Form von Ammoniak durch Destillation mit Magnesiumoxyd und jenem, der durch Destillation mit Natronlauge gefunden wurde, wurde dem organischen Stickstoffgehalte zugezählt. Die Salpetersäure wurde in dieser 500 ccm betragenden Flüssigkeit nach der Abdestillation des Ammoniaks mittels Natronlauge nach der Methode Dewardas bestimmt. Zu dem entsprechend abdestillierten Reste werden etwa 5 ccm Alkohol und 2,5 g Dewardascher Mischung hinzugefügt und nach beendigter Re-

duktion das aus der Salpetersäure entstandene Ammoniak abgetrieben. In der Lösung wurde schließlich nach der Bestimmung des Ammoniaks und der Salpetersäure, nach gründlicher Ansäuerung mittels Schwefelsäure, der organische Stickstoff nach der bekannten Methode Kjeldahls bestimmt. Die salpetrige Säure neben der Salpetersäure wurde in besonders abgemessenen Partien nach der modifizierten Methode Pellets in einem hierzu speziell konstruierten Apparate festgestellt. Der Stickstoff in Form von Salpetersäure läßt sich, wenn diese namentlich in einer größeren Menge vorhanden ist, durch eine andere Methode genau neben Ammoniak und organischem Stickstoff, speziell bei Gegenwart von Hexosen oder Pentosen, sowie von Disacchariden in der Flüssigkeit nicht bestimmen, wovon ich mich durch zahlreiche Beobachtungen überzeugt habe. Die Methode Jodelbauers, sowie die modifizierte Methode Försters geben regelmäßig niedrigere Resultate.

Qualitativ wurde zumeist die salpetrige Säure, die Salpetersäure und das Ammoniak (das letztere bloß in Lösungen, wo keine Kohlenhydrate vorhanden waren, denn diese geben mit dem Neßlerschen Reagens, dessen man sich zum Nachweis des Ammoniaks bedient, eine analoge Reaktion) nach den bekannten und bewährten Methoden bestimmt.

Die Feststellung der einzelnen Formen der Eiweißkörper, die durch die Lebensprozesse der Mikroben entstanden sind, wurde nach der Methode von Hausmann¹) durchgeführt. Das geschah nicht nur in der Mikrobenkultur, die auf dem Filter, das aus Glasperlen bestand, aufgefangen wurde, sondern auch in der Lösung, in der allerdings das hinzugefügte Natriumnitrat nicht mehr als solches gegenwärtig war, sondern bloß als organischer Stickstoff, in welch letzterem das Nitrat zum Teil verwandelt worden war. 500 ccm des Filtrats oder eine Mikrobenkultur in 500 ccm Wasser wurde in einem Apparat, wie man denselben zur Bestimmung des Stickstoffs in Ammonsalzen verwendet, auf ca. 100 ccm abgedampft. Das allenfalls entweichende Ammoniakgas wird in einem Kolben mit ¹/10 Normalschwefelsäure aufgefangen.

¹) Walter Hausmann, Über die Verteilung des Stickstoffs im Eiweißmolekül. Zeitschr. f. physiol. Chem. 27 und 29.

Nach gründlicher Abkühlung werden 20 ccm konzentrierter Chlorwasserstoffsäure hinzugefügt, der Kolben mit einem Rücklaufkühler versehen und der Inhalt durch 5 Stunden gekocht. Nach gründlicher Abkühlung und vorsichtiger Neutralisation mit Magnesiumoxyd, unter fortwährendem Umrühren, wird das Ammoniak aus dem Chlorammonium durch überschüssiges Magnesiumoxyd vertrieben. Nach der Destillation wird der Rest in Chlorwasserstoffsäure gelöst, auf ein kleines Volumen abgedampft und mittels Phosphorwolframsäure gefällt. Nach 24 bis 30 Stunden erfolgt die Abfiltrierung des Niederschlags, der mit einer stark verdünnten Lösung von Phosphorwolframsäure, zu der Chlorwasserstoffsäure hinzugefügt worden war, durchgewaschen wurde. Der Niederschlag wird hierauf samt dem Filter in einen Kolben eingetragen und der Stickstoff des Inhaltes nach der Methode Kjeldahls bestimmt. Im ganzen Filtrate oder bloß in der Hälfte desselben wird der Stickstoff ebenfalls nach der Methode Kjeldahls bestimmt. Der eventuell überdestillierte Stickstoff in Form von Ammoniak, und zwar überdestilliert durch bloßes Kochen bei einer Konzentration der Flüssigkeit von 500 ccm auf 100 ccm ist zu jenem Stickstoff hinzuzurechnen, der mittels Kochens mit Chlorwasserstoffsäure und durch Austreiben mittels Magnesiumoxyd gewonnen wurde.

Es seien hier, der Kürze wegen, die einzelnen Formen dieses Stickstoffs angeführt.

- 1. Amidstickstoff (abgespalten durch Kochen mit Chlor-wasserstoffsäure),
- 2. Diaminostickstoff (gefällt mittels Phosphorwolframsäure) und endlich
- 3. Monoaminostickstoff (Filtrat des mittels Phosphorwolframsäure gefällten Niederschlags).

Neben der Bestimmung des Stickstoffs in der Lösung der einzelnen Bakterienarten wurde auch das betreffende, nicht zersetzte, restliche Kohlenhydrat bestimmt und zwar jedes nach der entsprechenden Methode. Von der auf 2000 ccm verdünnten, die Hexosen enthaltenden Lösung, wurde ein Quantum von 200 ccm abgemessen und durch hinreichendes Hinzufügen (2 bis 5 ccm) basischen Bleiacetats gefällt. Die klare Flüssigkeit wurde filtriert, das überschüssige Blei mit kohlensaurem Natron

herausgefällt, der entstandene Niederschlag abfiltriert und von dem Filtrate erst eine entsprechende Menge zur Bestimmung des Zuckers verwendet, der in der Lösung übrig geblieben war.

Die Glucose wurde nach der bekannten Methode von Allihn bestimmt, nach der im Erlenmeyerschen Kolben 30 ccm schwefelsaures Kupfer, 30 ccm Seignettesalzlösung und 60 ccm vorher zum Sieden gebrachten Wassers mit 25 ccm der Zuckerlösung in Berührung gebracht und noch 2 Minuten kochend erhalten wurden. Das ausgeschiedene Kupferoxydul, das mittels einer Asbestschicht im Goochschen Platintiegel aufgefangen wird, wird nach erfolgtem Durchwaschen reduziert und als metallisches Kupfer gewogen. Aus der Tabelle wird dann die zugehörige Menge Glucose abgelesen.

Die Bestimmung der Lävulose, die in der Flüssigkeit zurückgeblieben ist, erfolgte nach der Methode Lehmann¹). In dem Erlenmeyerschen Kolben wurden 25 ccm Kupferlösung (69,278 g umkrystallisiertes CuSO₄ in 1000 ccm Wasser), 25 ccm alkalische Seignettesalzlösung (346 g Seignettesalz, 250 g Natriumhydrat in 1000 ccm Wasser) und 50 ccm Wasser abgemessen. Das hier angeführte Gemisch wurde zum Kochen gebracht und in langem Strahl in dieselbe eine 25 ccm betragende Zuckerlösung eingeleitet und das Gemisch noch durch 15 Minuten siedend erhalten. Mit dem ausgeschiedenen Kupferoxydul wurde wie bei der Bestimmung der Glucose verfahren. In den von Lehmann¹) ausgearbeiteten Tabellen wurde das zugehörige Quantum Lävulose abgelesen.

In jenen Fällen, wo weniger als 10 mg Kupfer ermittelt wurden, haben wir die Menge der Lävulose, die dem ausgeschiedenen Kupferoxydul entsprach, nach der Gleichung:

$$y = 1.08 + 1.9674 x - 0.001054 x^{2}$$

berechnet.

Die Analyse der Galaktose wurde nach der Methode Steigers durchgeführt, die eine einigermaßen abweichende Lösung zur Zuckerreduktion erfordert. Diese Lösung besteht aus:

a) einer Kupferlösung (34,64 g umkrystallisiertes CuSO₄ in 500 ccm Wasser),

¹⁾ Lehmann, Zeitschr. d. Vereins d. Rübenzuckerindustrie 1884, 993.

²) Ot. Šulc, Zeitschr. f. Zuckerindustrie in Böhmen 19, 316.

- b) einer Seignettesalzlösung (173 g Seignettesalz in 400 ccm Wasser),
 - c) Natronlauge (500 g NaOH in 1000 ccm Wasser).

Gearbeitet wurde in folgender Weise:

80 ccm der Flüssigkeit b),

200 ccm der Flüssigkeit c) und

100 ccm der Flüssigkeit a) wurden gemengt.

Von dieser Lösung wurden 60 ccm genommen und im Erlenmeyerschen Kolben mit 60 ccm Wasser gemengt, zu welchem Gemische 25 ccm Zuckerlösung hinzugefügt wurden, worauf das Ganze durch 4 Minuten gekocht worden ist. Das ausgeschiedene Kupferoxydul wurde reduziert und abermals als metallisches Kupfer abgewogen.

Nachdem die Steigerschen Tabellen nicht vollständig sind, war es manchmal notwendig, zwischen den beiden nächsten Wertangaben derselben eine Interpolation zu benutzen.

Die Bestimmung der Pentosen erfolgte nach der Phloroglucinmethode. Es wurde in der Weise vorgegangen, daß die aus der ursprünglichen Flüssigkeit von 2000 ccm abgemessenen 75 ccm mit 25 ccm Salzsäure (spezifisches Gewicht 1,19) in dem Kolben gemengt wurden, wodurch wir die zur Destillation erforderliche Konzentration der Salzsäure (1,06 = $12^{0}/_{0}$), sowie die erforderliche Menge von 100 ccm erreichten. Die Destillation wurde unter Anwendung eines automatischen Apparates zur Bestimmung der Pentosen unter fortwährender automatischer Zufuhr von 30 ccm Salzsäure (spezifisches Gewicht 1,06) nach vorheriger Abdestillation desselben Quantums von 30 ccm durchgeführt.

Die Methode unseres weiteren Vorgehens werde ich hier des näheren nicht anführen; ich verweise diesbezüglich auf die Arbeit "Über die Verbreitung und biologische Bedeutung der Furfuroide im Boden" (I. Abhandlung von Julius Stoklasa, Sitzungsberichte der kaiserlichen Akademie der Wissenschaften in Wien, mathem.-naturw. Klasse, Bd. C, VII. Abteilung, 1. Oktober 1898), wo diese Methoden ausführlich behandelt wurden.

Es versteht sich allerdings von selbst, daß die Ziffern, welche die Menge des restlichen Kohlenhydrats angeben, sich auf die Quanten beziehen, die durch die Analyse der Kontrollkolben gefunden wurden, nach denen dann der Verlust an Kohlenhydraten nach dem Versuche berechnet wurde. Wichtig ist dies besonders bei gewissen Kohlenhydraten, die durch die Sterilisation Veränderungen erfahren und deren ursprünglich benutzte und abgewogene Menge durch die Sterilisation, d. i. durch die Zersetzung, bedeutend sinkt, wie dies z. B. bei Xylose der Fall ist.

Bekanntlich ist es möglich, bei den genannten Mikrobenarten, deren Einfluß auf die Zersetzung der Nitrate studiert wurde, zwei besondere Gruppen zu unterscheiden, und zwar eine Gruppe von Mikroben, die vermöge ihrer Fähigkeit, den Nitratstickstoff allmählich in Ammoniak überführen, die Ammonisationsbakterien heißen, und eine zweite Gruppe, deren Repräsentanten eine tiefergehende Zersetzung des Nitrats einleiten, indem sie aus demselben die einfachste Form, den elementaren Stickstoff, frei machen, welche die Gruppe der Denitrifikationsbakterien darstellen.

Die Intensität der Eiweißbildung ist nicht nur durch die Art der Mikroben bedingt, sondern auch durch das Nährmedium, wie aus den Versuchsresultaten erhellt.

In den angeschlossenen Tabellen ist der Chemismus der Mikroben, der sich bei der Eiweißsynthese, wo im Nährmedium Kohlenhydrate und organische Säuren vorhanden waren, abgespielt hat, ersichtlich gemacht.

Aus unseren Untersuchungen geht hervor, daß die Bildung neuer lebender Materie der Mikrobenzelle, die insbesondere durch Eiweißsynthese charakterisiert ist, bei der als Stickstoffquelle Salpetersäure dient, abhängig ist von einer geeigneten Kohlenstoffquelle, also Kohlenhydraten und organischen Säuren.

Bei dem Aufbau der Eiweißstoffe aus dem Nitration, verschiedenartigen Kohlenhydraten und organischen Säuren entsteht die salpetrige Säure durch die Reduktion der Salpetersäure des Natriumnitrats. Die Reduktion der Salpetersäure zu salpetriger Säure erfolgt durch den in statunascendi sich bildenden Wasserstoff. Der Wasserstoff selbst entsteht wieder neben Kohlendioxyd durch die Zersetzung der Kohlenhydrate

Tabelle A. Glucose.

		de				Stickstof	Stickstoffmenge in der Lösung nach dem Versuche	der Lö	sung nac	h dem V	ersuche	Glucose	ose
Nu		Dates Ver		Reaktion der Lösung nach dem Versuche	ng nach	bestimmt NH durch	bestimmt in	E C	uo.	Gesar kons Stie	Unte gegen Sticks vor d.	in de	Verlus der u Menge Ve
mm	Mikrobenart	ier rsuc				Destillat	Destillation mit	ur	organ.	des	über	r Lö	ranr
er		hes		auf Nitrite	auf Nitrate	MgO	NaOH	aten id iten	stoff	rten		sung Ver-	genüb. üngl. dem he
		Tage				540	510	560	540	6 00	0/0	80	0/0
1	Bact. Hartlebi	301)	schw. alkal.	keine	keine	1	1	1	0,0196	0,0196	-93,97	0	-100
2		302)		E	E	0,0168	0,028	0		0,0504	-84,48	0	-100
က	Bac. 1	442)		stark	schwach	0,0168			_	0,0560	-		-100
4		20	r r	sehr schw.	sehr stark 0,00784	0,00784		0,2980	0,01932	0,32516 + 0,11		1,47057	- 7,63
0		20		sehr stark		0,03136	0,03696	0,2576	0,03598 0,32494	0,32494	-	0,58418	-63,3
9		48	neutral	schwach	stark	1	1	0,2800	0,0280	0,3080	-5,17	1,6600	1
7		48	schw. alkal.	sehr schw.	sehr stark	0,00672	0,0084	0,3136	0,00516	0,32548	+ 0,21	1,4544	8,64
00		20	r			1	1	0,2912	0,0112	0,3024	6,89	1,5520	1
6	Bact. coli commune	20			n n	1	1	0,2856 0,0168	0,0168	0,3024	-6,891	1,6720	1
10	Bac. denitrificans + Bact.												
	coli commune	503)	alkalisch			1	1	0,0224 0,0224		0,0448	86,2	0,1520	1
11	Proteus vulgaris	45	neutral	sehr stark	2	96800'0	0,00784	0,2912	0,02464 0,3248	0,3248		0.24402	-84.67
12	Proteus Zenkeri	46	schw. alkal.	stark		0,04256	0,04694	0,2464	0,03686	0,03686 0,32582	+	·	-100
13	Bac. mycoides	30		E	n	0,0672	1	0,2072	0,0434	0,3178	1	2,15 0,8880	1
14	Bac. subtilis	34	neutral	sehr stark		0,00784	0,01036	0,2912	0,02868	0,32772	+	0,89 0,19715	-87,61
15	Bac. Megaterium	30	alkalisch		2 2	0,0280	1	0,2632	0,0336	0,3248	1		-100
16	Bac. typhi a	30	neutral	Spuren	2 2	1	1	0,3248	1	0,3248	1	1,9149	0
17		40	schw. alkal.	sehr stark	stark	0,04704	0,0504	0,2352	0,0364	0,31864	1	1,89 0,24644	-84,52
8	Bac. ramos. n. liquefaciens	40	neutral		sehr stark 0,01064	0,01064	0,01064		0,03192	0,32256	1	0,69 0,1972	-87,61
19	Kontrollkolben	1	1	1	1	1	ı	0,3248	1	0,3248	ı	ı	1
20	20 Kontrollkolben	1	1	1	1	1	1	0,3248	1	0,3248	1	1,5920	1
	1) Stürmische Gärung am 7. Tage.	am 7.		Starke G	²) Starke Gärung am 3. Tage.	3. Tage.	3) Sch	3) Schwache Gärung.	Järung.				
					D	D			0				

Tabelle B. Lävulose.

suche Lävulose	nac	der h d					_	-	_	_	_	31,01	_	_	10		14,70	10		27	_	57,04		_	_
suche		bu	em	ver-	540	0	57,76 0,4121	71,55 0,202	1,192	1,5328	0,9888	0,9472	1,3356		Spuren	E	1,1712	Spuren	1,3592	0,16 1,68872	0,22 Spuren	0,5898	1,27826	1,3731	1,8264
er	geg	ksto	ber offn	ied der nenge suche	0/0	-87,59	-57,76	-71,55	0	+ 1,2	- 4,31	-5,17	0			+ 0,17	0	0		1	1	0	Ø	1	1
ch dem V	ko	d nsta	es	rten	540	0,0403	0,1372	0,0924	0,3248	0,3287	0,3108	0,3080	0,3248		0,32476	0,32536	0,3248	0,3246		0,32428	0,32408	0,3248		0,3248	0,3248
sung na	von		Stick.	stoff	540	0,0403						0,0112	0,0084										0,00168	1	1
n der Lö	Form		un	d	540	ı	0,1008	0,0448	0,3080		0,2744	0,2968	0,3080		0,2968	0,2884	0,3192	0,2912		0,3024	0,2856			0,3248	0,3248
Imenge i	immt in	durch	ion mit	NaOH	540	1	0,015	0,021	0	0,00504	0,0092	0	0,0000		0,00896	0,0202	0	0,0174	0,0091	0,00672	0,0263	0,0130	0,00448	١	1
Stickstof	best	NH	Destillat	MgO	540	1	0,014	0,0196	0	0,0039	0,0084	0	0,0084		0,00784	0,01904	0	0,0168	0,0084	0,00616	0,02128	0,0112	0,00392	1	1
	ng nach			auf		keine	stark	sehr schw.	sehr stark			r r	n			2	E	e e	n	r r		r r	n n	1	1
	n der Lösu em Versuck			auf		keine	Spuren	E	keine	sehr schw.	schwach	keine	E		sehr stark		stark	schwach	keine	sehr schw.	sehr stark		sehr schw.	1	1
						schw. alkal.			1	neutral		t t	schw. alkal.		n	1 2	n n	a a	T T	neutral	schw. alkal.	r r	neutral	r	r
de				hes	Tage	351)	352)	322)	30	30	30	30	30		30	20	36	37	30	30	30	30	30	1	1
						Bact. Hartlebi	Bac. fluoresc. liquef								denitrificans	Proteus vulgaris							Bac. typhi abdom	Kontrollkolben	19 Kontrollkolben
	_	Reaktion der Lösung nach	Reaktion der Lösung nach Adem Versuche	Reaktion der Lösung nach Adem Versuche Mikrobenart	Reaktion der Lösung nach dem Versuche Andrew auf auf Antrate	Mikrobenart Sang Beaktion der Lösung nach dem Versuche sang sang sauf Auge	Mikrobenart Mikrobenart Sea Reaktion der Lösung nach dem Versuche auf auf auf Tage Bact. Hartlebi 35 ¹) schw. alkal. keine keine	Mikrobenart Mikrobenart Sact. Hartlebi	Mikrobenart Mikrobenart Sact. Hartlebi	Mikrobenart Bact. Hartlebi	Mikrobenart Sact. Hartlebi	Mikrobenart Act Ac	Mikrobenart Act Ac	Mikrobenart Sact. Hartlebi Sact. H	Mikrobenart Same Reaktion der Lösung nach Amikrobenart Same Amikrobenart Same Same	Mikrobenart Sact. Hartlebi Sact. H	Mikrobenart Act Ac	Mikrobenart Act Ac	Mikrobenart Pact Pact	Mikrobenart Sact. Hartlebi 35 schw. akal schw. akal 30	Mikrobenart Same Reaktion der Lösung nach	Mikrobenart Act Ac	Mikrobenart Act Ac	Mikrobenart Pact Pact	Mikrobenart Pactor Pacto

Beginn der Gärung am 5. Tage.
 Beginn der Gärung am 3. Tage.

Tabelle C. Galaktose.

		de	;			Stickstof	Stickstoffmenge in der Lösung nach dem Versuche	n der Lö	sung nac	h dem V	ersuche	Galaktose	tose
Nun	Wilrachonout	Daue es Vers		Reaktion der Lösung nach dem Versuche	ng nach e	bestimmt NH ₃ durch	bestimmt in H ₃ durch	Ni Ni	von	Gesamt d konsta Stick	Unter gegenü Sticksto vor d. V	in der	Verlust der urs Menge Vers
nme	or a large of the					Destillation mit	ion mit	tra unc	Organ. Stick-	es tier	ber offm	Lös	prü
er		ies		auf Nitrite	auf Nitrate	Mg0	NaOH	ten	stoff	ten	der	ung	ngl.
		Tage				50	50	5.0	5.0	ы	0/0	540	0/0
	Bact. Hartlebi	401)	401) schw. alkal.	stark	schwach	0,0056	0,0168		0,0403	0,0823	-74,66	0	100
22	Bac. fluoresc. liquefac	373)	neutral	sehr stark sehr stark	sehr stark	0	0		_	0,2016	-37,93	37,93 0,4837	57,44
00	Bac. pyocyaneus	402)	r	schwach		0	0	0,2408	0,0168	0,2576	-20,69	20,69 0,7673	32,48
4	Bact. Stutzeri	30	r	keine	2	Ø	0	0,3192	1	0,3192	-1,72	1,72 1,6833	2,13
20	Bact. filefaciens	37	r	schwach	2 2	0,0040	0,0034	1	0,0104	1	1	1,6376	0
9	Bact. centropunctatum .	44		keine	n n	0	0	0,3248	1	0,3248	0	1,1364	0
-	Bact. nitrovorum	31	r	я	n	0	0			0,3164	-2,58	2,58 1,5453	10,15
00	Bac. denitrificans	40	r	merklich	n	0	0,0017			0,3149	-3,04	3,04 1,3500	17,56
		30	7	keine	E	0	0	0,3192	0,0056	0,3248	0	1,0554	7,13
10	Bact. coli commune + Bac.												
_	denitrificans	37	2	sehr stark	n	96800,0	901000	0,2800	0,01820	0,01820 0,30716	1	5,43 1,1328	30,83
	Proteus vulgaris	35	r	stark	T T	0,00896 0,0062	_		0,02352	0,02352 0,32488	0	1,3962	14,74
	Bac. mesenter. vulgat	38	schw. alkal.	r	T T	0,01808	0,0140		0,01572	0,3250	Ø	0,2323	85,81
13	Bac. ramos. n. liquef	30	neutral	sehr schw.	n n	0		0,3136		0,3248	0	1,5029	12,62
	Bac.	36	2	n n	n n	0,0056	0,00784	0,3024	0,0168	0,3248	0	1,3980	14,63
	Bac. subtilis	56	schw. alkal.	stark	n n	0,02016	0,02072	0,2912	0,01344	0,3248	9	0,41976	74,37
	Bac. typhi abdom	37	neutral	merklich		0,0048	0,00504		0,0388	1	1	1,3719	16,22
	Kontrollkolben	1	r	1	1	1	1	0,3248	1	0,3248	0	1,6376	1
		1	2	1	1	1	1	0,3248	1	0,3248	0	1,7200	1
19	Kontrollkolben	1	14 2	1	17	1	1	0,3248	1	0,3248	0	1,1364	1
		1	-										

Beginn der Gärung am 5. Tage.
 Beginn der Gärung am 6. Tage.

Tabelle D. Arabinose.

	A WASHINGTON A STATE OF THE PARTY OF THE PAR	d	Tana Car			Sticksto	Stickstoffmenge in der Lösung nach dem Versuche	n der Lö	sung na	oh demV	ersuch		Arabinose
1	Closens from Searing		Reaktion	Reaktion der Lösung nach dem Versuche	ng nach	best	bestimmt in	Form	von	ko	Stic	nac	der
Vun		au				NH3	NH3 durch				ksto	h d su	ust urs nge Vers
nm	MIKLODGIBLO					Destilla	Destillation mit	un	Stick.	es	ber	em	pri voi
er	State of the state	hes		auf Nitrite	auf Nitrate	MgO	NaOH	ten d iten	stoff	nme rten ffs	der der enge suche		entib. ingl. dem
	Man desired	Tage				540	540	500	510	540	0/0	540	0/0
_	:	501)	schw. alkal.	keine	keine	0,0280	1	1	0,1092	0,1092	- 66,38	8 Spuren	100
CA	Bac. fluoresc. liquef	501)	n	schwach	schwach sehr stark 0,0084	0,0084	0,0168	0,2688	0,0246	0,3018	7,08	8 Spuren	100
ഞ	3 Bac. pyocyaneus	20	neutral	sehr schw.	n	0	0,0112	0,2980	0,0268	0,3248	0	1,2480	36,33
4	Bact. Stutzeri	20	r.	schwach	2	0,0080	0,0202	0,3136	0,0110	0,3326	+ 2,4	1,7760	9,38
TL3	Bact. filefaciens	20	r	r	2 2	1	1	0,3192	0,0056	0,3248	0	1,6880	13,87
9	Bact. nitrovorum	20	E	t	2 2	0	960000	0,3192	0,0056	0,3248	0	1,5640	20,3
7	Bac. denitrificans	20	2	sehr schw.	n	0,01232	90100	0,3024	0,01008	0,3248	0	1,8260	6,83
00		48	E	r	t t	0,00728	0,0061	0,3192	0,00784	0,33432+	+ 2,92	2 1,9226	1,90
0		46	2	sehr stark	r	0,0112	0,0196	0,2912	0,0246	0,3270	89,0 +		100
10		50		sehr schw.	2 2	1	1	0,3248	1	0,3248	0	1,396	28,77
1	Bac. mycoides	43			n n	0,0062	96800,0	0,3136	0,0088	0,3286	+ 1,17		0
12	Bac. subtilis	45	schw. alkal.	sehr stark	n	0,03976			0	0,3248	0	Spuren	100
133	Bac. typhi abdom	20	neutral	stark	2 2	0,00448	0,00448	0	0,01792	0,3248	0	1,850	5,61
14	Clostridium gelatin	46	schw. alkal.	sehr stark	n n	0,1512	0,1568	0,1568	0,0168	0,3248	Ø	Spuren	100
15	5 Bac. prodigiosus	45	neutral	e e	n n	0,0134	0,0168	0,2912	0,0224	0,3270	+ 0,68	8 1,196	38,97
16	Kontrollkolben	1	E	1	1	1	1	0,3248	١	0,3248	0	1,960	1
	-												

1) Längere Zeit schwach gegoren.

Tabelle E. Xylose.

Reaktion der Lösung nach dem Versuche auf Nitrate schw. alkal. schwach schr schr stark neutral schwach schr stark new. alkal. schwach schr stark n n n schr stark schw. alkal. schwach schr stark n n n schr stark schw. alkal. schw. alkal. schr stark n n schw. alkal. schw. alkal. schw. alkal.	1 8c	Mikrobenart Bact. Hartlebi Bact. Stutzeri Bact. filefaciens Bact. centropunctatum Bact. obi commune Coli c
2 2	ntral " . alkal. " . atral	neutral schw. alkal. neutral

1) Längere Zeit schwach gegoren.

Tabelle F. Milchsäure.

	d					Stickstof	Imenge i	n der Lö	sung na	ch demV	ersuche
	les '	щ	eaktion der	Lösung na	rch	pesti	immt in	Form 1	ron		geg Stic vor
)au Ver					NH3	luroh	Ni	40040	d	nter genü ksto d.
Mikrobenart	er suc					Destillat	ion mit	un tra	Stick-	es	ber offm Vers
	hes		auf	auf	auf	MgO	NaOH	\mathbf{d}	stoff		led der enge suche
	Tage					500	540	5.0	p 0	500	0/0
Bact. Hartlebi	361)	schw. alka	1. keine	keine	keine	1	1	1	0,0448	0,0448	-86,21
Bac. fluoresc. liquef	361)	E	merklich	stark	schwach	0,0224	1	0,0280	0,0280	0,0784	-75,86
Bac. pyocyaneus	36^{1}	n	keine	keine	keine	1	1	1	0,0392	0,0392	1
Bact. Stutzeri	371)	2 2	Spuren	r	E	0,0168	1	1	0,0504	0,0672	1
Bact. filefaciens	331)	E	keine	e	. "	1	1	1	0,0560	0,0560	-82,76
Bact, centropunctatum	362)		merklich	sehr schw.	Spuren	0,0112	1	0,0392	0,0448	0,0952	-70,69
Bact. nitrovorum	30^{1}		E	keine	keine	0,0280	1	1	0,0392	0,0672	-79,31
Bac. denitrificans	37	2	keine	r	sehr stark	1	1	0,3248	ı	0,3248	0
	32		merklich	sehr stark	E E	0,0280	0,0448	0,2464	0,0448	0,3192	-1,72
Bac. denitrificans + Bact.											
coli commune	36	2	keine	keine	keine	1	1	1	0,0280	0,0280	-91,38
Proteus vulgaris	30		E		sehr stark	1	1	0,2912	0,0336	0,3248	0
Proteus Zenkeri	36	2 2	ganzdeutl	E E	n n	0,0224	1	0,2856	0,0168	0,3248	0
Bac. mesenter. vulgat	33		keine	E E	n n	0	0	0,3136	0,0112	0,3248	0
Bac. ramos. n. liquef	34	7 2	stark	r	r r	0,0784	0,084	0,2296	0,0168	0,3248	Ø
Bac. mycoides	40	E	keine	keine	r r	1	1	0,3248	1	0,3248	0
Bae. subtilis	40		merklich	sehr stark	E E	0,0224	0,0336	0,2800	0,0224	0,3248	
Bac. Megaterium	40		E	E E		0,028	0,0336	0,2576	0,0392	0,3248	0
Bac. typhi abdom	37	n n	keine	Spuren		1	1	0,3248	1	0,3248	0
1) Am 3. Tage Beginn der G	ärung		g) Am	7. Tage sc	hwache Gë	rung.					
	Mikrobenart Bact. Hartlebi. Bac. fluoresc. liquef. Bact. offoresc. liquef. Bact. skutzeri. Bact. filefaciens Bact. centropunctatum Bact. centropunctatum Bact. coli commune Bact. coli commune Bac. denitrificans Bac. denitrificans Bac. denitrificans Coli commune Bac. coli commune Bac. coli commune Bac. coli commune Bac. denitrificans Bac. denitrificans Bac. denitrificans Bac. denitrificans Bac. denitrificans Bac. mesenter. vulgat.	Mikrobenart Sapa	Mikrobenart Sab Sa	Mikrobenart Sep Reaktis	Mikrobenart Sep Reaktis	MikrobenartSeptendentReaktion der Lösung nach dem VersucheFageTageNHgNitriteNitrateHartlebi 364 n schw. alkal.keinekeinekeineHorosco. liquef. 364 n n schw. alkal.keinekeineStutzeri 374 n n schwachStutzeri 374 n n keinekeineStutzeri 334 n n keinekeineStutzeri 334 n n keinekeineStutzeri 334 n n n n nitrovorum 354 n n keinekeinedenitrificans $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ denitrificans $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ us vulgaris $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ us Zenkeri $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ us vulgaris $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ ramos. n. liquef. $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ mycoides $+$ $+$ $+$ </td <td>MikrobenartSeptendentReaktion der Lösung nach dem VersucheFageTageNHgNitriteNitrateHartlebi$364$$n$schw. alkal.keinekeinekeineHorosco. liquef.$364$$n$$n$schw. alkal.keinekeineStutzeri$374$$n$$n$schwachStutzeri$374$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$$n$$n$nitrovorum$354$$n$$n$keinekeinedenitrificans$+$$+$$+$$+$$+$denitrificans$+$$+$$+$$+$$+$us vulgaris$+$$+$$+$$+$$+$us Zenkeri$+$$+$$+$$+$$+$us vulgaris$+$$+$$+$$+$$+$ramos. n. liquef.$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$<!--</td--><td>MikrobenartSeptendentReaktion der Lösung nach dem VersucheFageTageNHgNitriteNitrateHartlebi$364$$n$schw. alkal.keinekeinekeineHorosco. liquef.$364$$n$$n$schw. alkal.keinekeineStutzeri$374$$n$$n$schwachStutzeri$374$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$$n$$n$nitrovorum$354$$n$$n$keinekeinedenitrificans$+$$+$$+$$+$$+$denitrificans$+$$+$$+$$+$$+$us vulgaris$+$$+$$+$$+$$+$us Zenkeri$+$$+$$+$$+$$+$us vulgaris$+$$+$$+$$+$$+$ramos. n. liquef.$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$<!--</td--><td>MikrobenartSeptendentReaktion der Lösung nach dem VersucheFageTageNHgNitriteNitrateHartlebi$364$$n$schw. alkal.keinekeinekeineHorosco. liquef.$364$$n$$n$schw. alkal.keinekeineStutzeri$374$$n$$n$schwachStutzeri$374$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$$n$$n$nitrovorum$354$$n$$n$keinekeinedenitrificans$+$$+$$+$$+$$+$denitrificans$+$$+$$+$$+$$+$us vulgaris$+$$+$$+$$+$$+$us Zenkeri$+$$+$$+$$+$$+$us vulgaris$+$$+$$+$$+$$+$ramos. n. liquef.$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$<!--</td--><td>MikrobenartSeptendentReaktion der Lösung nach dem VersucheFageTageNHgNitriteNitrateHartlebi$364$$n$schw. alkal.keinekeinekeineHorosco. liquef.$364$$n$$n$schw. alkal.keinekeineStutzeri$374$$n$$n$schwachStutzeri$374$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$$n$$n$nitrovorum$354$$n$$n$keinekeinedenitrificans$+$$+$$+$$+$$+$denitrificans$+$$+$$+$$+$$+$us vulgaris$+$$+$$+$$+$$+$us Zenkeri$+$$+$$+$$+$$+$us vulgaris$+$$+$$+$$+$$+$ramos. n. liquef.$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$<!--</td--><td> Mikrobenart State Mikrobenart Mikrobenart State Mikrobenart Mikroben</td></td></td></td></td>	MikrobenartSeptendentReaktion der Lösung nach dem VersucheFageTageNHgNitriteNitrateHartlebi 364 n schw. alkal.keinekeinekeineHorosco. liquef. 364 n n schw. alkal.keinekeineStutzeri 374 n n schwachStutzeri 374 n n keinekeineStutzeri 334 n n keinekeineStutzeri 334 n n keinekeineStutzeri 334 n n n n nitrovorum 354 n n keinekeinedenitrificans $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ denitrificans $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ us vulgaris $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ us Zenkeri $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ us vulgaris $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ ramos. n. liquef. $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ mycoides $+$ $+$ $+$ </td <td>MikrobenartSeptendentReaktion der Lösung nach dem VersucheFageTageNHgNitriteNitrateHartlebi$364$$n$schw. alkal.keinekeinekeineHorosco. liquef.$364$$n$$n$schw. alkal.keinekeineStutzeri$374$$n$$n$schwachStutzeri$374$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$$n$$n$nitrovorum$354$$n$$n$keinekeinedenitrificans$+$$+$$+$$+$$+$denitrificans$+$$+$$+$$+$$+$us vulgaris$+$$+$$+$$+$$+$us Zenkeri$+$$+$$+$$+$$+$us vulgaris$+$$+$$+$$+$$+$ramos. n. liquef.$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$<!--</td--><td>MikrobenartSeptendentReaktion der Lösung nach dem VersucheFageTageNHgNitriteNitrateHartlebi$364$$n$schw. alkal.keinekeinekeineHorosco. liquef.$364$$n$$n$schw. alkal.keinekeineStutzeri$374$$n$$n$schwachStutzeri$374$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$$n$$n$nitrovorum$354$$n$$n$keinekeinedenitrificans$+$$+$$+$$+$$+$denitrificans$+$$+$$+$$+$$+$us vulgaris$+$$+$$+$$+$$+$us Zenkeri$+$$+$$+$$+$$+$us vulgaris$+$$+$$+$$+$$+$ramos. n. liquef.$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$<!--</td--><td>MikrobenartSeptendentReaktion der Lösung nach dem VersucheFageTageNHgNitriteNitrateHartlebi$364$$n$schw. alkal.keinekeinekeineHorosco. liquef.$364$$n$$n$schw. alkal.keinekeineStutzeri$374$$n$$n$schwachStutzeri$374$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$$n$$n$nitrovorum$354$$n$$n$keinekeinedenitrificans$+$$+$$+$$+$$+$denitrificans$+$$+$$+$$+$$+$us vulgaris$+$$+$$+$$+$$+$us Zenkeri$+$$+$$+$$+$$+$us vulgaris$+$$+$$+$$+$$+$ramos. n. liquef.$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$<!--</td--><td> Mikrobenart State Mikrobenart Mikrobenart State Mikrobenart Mikroben</td></td></td></td>	MikrobenartSeptendentReaktion der Lösung nach dem VersucheFageTageNHgNitriteNitrateHartlebi 364 n schw. alkal.keinekeinekeineHorosco. liquef. 364 n n schw. alkal.keinekeineStutzeri 374 n n schwachStutzeri 374 n n keinekeineStutzeri 334 n n keinekeineStutzeri 334 n n keinekeineStutzeri 334 n n n n nitrovorum 354 n n keinekeinedenitrificans $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ denitrificans $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ us vulgaris $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ us Zenkeri $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ us vulgaris $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ ramos. n. liquef. $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ mycoides $+$ $+$ $+$ </td <td>MikrobenartSeptendentReaktion der Lösung nach dem VersucheFageTageNHgNitriteNitrateHartlebi$364$$n$schw. alkal.keinekeinekeineHorosco. liquef.$364$$n$$n$schw. alkal.keinekeineStutzeri$374$$n$$n$schwachStutzeri$374$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$$n$$n$nitrovorum$354$$n$$n$keinekeinedenitrificans$+$$+$$+$$+$$+$denitrificans$+$$+$$+$$+$$+$us vulgaris$+$$+$$+$$+$$+$us Zenkeri$+$$+$$+$$+$$+$us vulgaris$+$$+$$+$$+$$+$ramos. n. liquef.$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$<!--</td--><td>MikrobenartSeptendentReaktion der Lösung nach dem VersucheFageTageNHgNitriteNitrateHartlebi$364$$n$schw. alkal.keinekeinekeineHorosco. liquef.$364$$n$$n$schw. alkal.keinekeineStutzeri$374$$n$$n$schwachStutzeri$374$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$$n$$n$nitrovorum$354$$n$$n$keinekeinedenitrificans$+$$+$$+$$+$$+$denitrificans$+$$+$$+$$+$$+$us vulgaris$+$$+$$+$$+$$+$us Zenkeri$+$$+$$+$$+$$+$us vulgaris$+$$+$$+$$+$$+$ramos. n. liquef.$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$<!--</td--><td> Mikrobenart State Mikrobenart Mikrobenart State Mikrobenart Mikroben</td></td></td>	MikrobenartSeptendentReaktion der Lösung nach dem VersucheFageTageNHgNitriteNitrateHartlebi 364 n schw. alkal.keinekeinekeineHorosco. liquef. 364 n n schw. alkal.keinekeineStutzeri 374 n n schwachStutzeri 374 n n keinekeineStutzeri 334 n n keinekeineStutzeri 334 n n keinekeineStutzeri 334 n n n n nitrovorum 354 n n keinekeinedenitrificans $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ denitrificans $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ us vulgaris $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ us Zenkeri $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ us vulgaris $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ ramos. n. liquef. $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ mycoides $+$ $+$ $+$ </td <td>MikrobenartSeptendentReaktion der Lösung nach dem VersucheFageTageNHgNitriteNitrateHartlebi$364$$n$schw. alkal.keinekeinekeineHorosco. liquef.$364$$n$$n$schw. alkal.keinekeineStutzeri$374$$n$$n$schwachStutzeri$374$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$keinekeineStutzeri$334$$n$$n$$n$$n$nitrovorum$354$$n$$n$keinekeinedenitrificans$+$$+$$+$$+$$+$denitrificans$+$$+$$+$$+$$+$us vulgaris$+$$+$$+$$+$$+$us Zenkeri$+$$+$$+$$+$$+$us vulgaris$+$$+$$+$$+$$+$ramos. n. liquef.$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$$+$$+$$+$mycoides$+$$+$$+$<!--</td--><td> Mikrobenart State Mikrobenart Mikrobenart State Mikrobenart Mikroben</td></td>	MikrobenartSeptendentReaktion der Lösung nach dem VersucheFageTageNHgNitriteNitrateHartlebi 364 n schw. alkal.keinekeinekeineHorosco. liquef. 364 n n schw. alkal.keinekeineStutzeri 374 n n schwachStutzeri 374 n n keinekeineStutzeri 334 n n keinekeineStutzeri 334 n n keinekeineStutzeri 334 n n n n nitrovorum 354 n n keinekeinedenitrificans $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ denitrificans $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ us vulgaris $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ us Zenkeri $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ us vulgaris $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ ramos. n. liquef. $+$ $+$ $+$ $+$ $+$ mycoides $+$ $+$ $+$ </td <td> Mikrobenart State Mikrobenart Mikrobenart State Mikrobenart Mikroben</td>	Mikrobenart State Mikrobenart Mikrobenart State Mikrobenart Mikroben

1) Am 3. Tage Beginn der Gärung.

Tabelle G. Valeriansäure.

	le	-		:: +		CORPORATION	Sacrasson menge in der rosang nach dem versache	100	Danie Ha	חמח חמ	orenena
	D s V		Keaktion der Lösung nach dem Versuche	on der Lösung na dem Versuche	ach	best	bestimmt in	Form	ron	ko	ge
Mikrohenari	ers					NH	NH, durch	Ni			
	er uch					Destillar	Destillation mit	un itra	organ.	les	iber
	ies		auf NH,	auf	auf	MgO	NaOH	iten d ten	stoff	mme rten ffs	der der nenge suche
	Tage		•	-		50	50	540	p 10	50	0/0
	361)	schw. alkai.	keine	keine	keine	1	1	1	0.0280	0.0280	- 91.38
	30^{1}	n n	Spuren	E		0,0168	1	ı	0,0420	0,0588	-81.89
bac. pyocyaneus	34^{1}	2 2	keine	2	2	1	1	1	0,0448	0,0448	-86.2
	361)	n n	E	r	r	1	1	1	0,0448	0,0448	- 86.2
	30%)		r	2	11	1	1	1	0,0448	0,0448	-86.2
	363)	7 7	E	£	E	1	1	1	0,0336	0,0336	- 89,68
	381)	n n	2	2	E	1	1	1	0,0392	0,0392	-87.93
	36	n n	2	sehr schw. sehr stark	sehr stark	0	0	0,3080	0,0168	0,3248	œ'
Bact. coli commune	40	7 7	E	sehr stark	n	0,0112	0,0168	0.2968	0.0168	0.3248	0
Proteus vulgaris	40	n n	n	stark		1	_	0,3136	_	0,3248	0
Proteus Zenkeri	34	n n		sehr stark	n n	0,0056	0,0112	0,3080	0,0112	0,3248	0
	36	n n	u	schwach	E	1	0,0056	0,3136	0,0112	0,3248	0
Bac.	36	n n	r	2	r	0	0	0,3080	_	0,3248	0
Bac.	300	n n	t	sehr stark	n n	0	0	0,2968	0,0224	0,3192	-1.79
Bac.	36	n n	2	r r	" "	0,0056	0,0056	0,3024	0,0224	0,3304	+1.72
Bac.	36	n n	merklich	n n	2 2	0,0336	0,0336	0,2464		0,3248	0
17 Bac. typh. abdom	38	n n	keine	2 2	2	0,0112	0,0112	0,2968	0,0168	0,3248	0

Am 3. Tage Beginn der Gärung.
 Durch 3 Tage kräftige Gärung.
 Am 3. Tage schwache Gärung.

¹) Am 6. Tag starke Gärung. ²) Am 3. Tag starke Gärung. ³) Am 2. Tag starke Gärung. ⁴) Am 4. Tag starke Gärung. ⁵) Langsame Gärung.

	Stickstoffmenge in der Lösung nach dem Versuche	Unte gegen Stickst vor d.	über	ded der nenge suche	0/0		-	1	4 - 84,48	1		-91,38	3	_	-90,51	-2,15	3		-1,97	1	١	8	
	ch dem	konst Stic			540	0,0406	9680,0	_	_	0,0504	0,0336	0,0280	0,3248		0,0308	0,3178		_	0,3184	0,3220	0,3192	0,3248	
	Sung na	von	organ.		50		_	0,0392	0,0392	0,0504	0,0336	0,0280	1			0,0322	0					0,0168	
	n der Lö	Form	itra	iten id aten	640	1	0,0392	1	1	1	1	1	0,3248		1	0,2856	0,3248	0,2604	0,2904	0,3080	0,2968	0,2744	-
	fimenge i	bestimmt in Form von NH. durch	Destillation mit	NaOH	5.0	1	0,0200	1	0,0152	1	1	1	1		1	0	0	0,030	0	0	0,0142	0,0356	
e.	Sticksto	best NH.	Destilla	MgO	50	1	0,0168	1	0,0112	ı	1	I	1		1	0	0	0,0252	9	0	0,0112	0,0336	
Tabelle H. Bernsteinsäure.		ach		auf Nitrate		keine	8	keine	r	2	"	r	sehr stark		keine	sehr stark sehr stark	n n		stark	sehr stark	stark	r.	
Bernst		Lösung na ersuche		auf		keine	bedentend	keine	Spuren	keine	u	£	stark		keine	sehr stark	stark	sehr stark	n n	Spuren	stark	sehr stark	
selle H.		Reaktion der Lösung nach dem Versuche		auf NH.	•	keine	schwach	keine	Spuren	keine	E	2	2		2	t	2		keine	E	sehr schw.	merklich	
Tal		Res				361) sehr alkal.		u u	n n						n n		" "					n n	
	d	Dau es Vei	ier	hes	Tage	361) se	362)	373)	354)	354)	354)	354)	30		366)	40	34	30	36	36	30	36	-
			Mikrobenart			1 Bact. Hartlebi	2 Bac. fluoresc. liquef	3 Bac. pyocyaneus		5 Bact. filefaciens			8 Bact. coli commune		commune	10 Proteus vulgaris	1 Proteus Zenkeri	2 Bac. mesenter. vulgat	3 Bac. ramos. n. liquef	4 Bac. mycoides	15 Bac. subtilis	6 Bac. Megaterium	
	Bioc	hemisch			rift I	II Band	73.									_	_	_		_	_	9	1

Tabelle I.

Zur Tabelle A und C (Ergänzungstabelle).

	NH, u		nge von net auf	
Mikrobenart	Durch De	stillation it	Methode Baumann-	Anmerkung
	MgO	NaOH	Böhmer	
	g	g	g	
Bact. Stutzeri	0,01008 0,04256 —	0,03696 0,0084 0,04704 0,0017	0,01092 0,021 0,00672 0,02856 0,0032 0,01092	Die Versuche wurden in Glukose durchgeführt: 2 g Glukose, 2 g NaNO ₂ 100 cem anorganischen Nährstoffs in 1,000 cem Wasser. Wasser. In diesen Fällen wurde das Filtrat nach der Fällung der Elweißstoffe nach lung der Elweißstoffe nach habdampien der Flüssigken Abdampien der Flüssigken auf ein entaprechendes Volumen direkt vor der Fällung die erforderlichen 50 cem H,SO ₄ (1:1) hinzugefügt.
Proteus vulgaris Bac. subtilis Bao. mesenter. vulgat. Bac. mycoides Bac. typhi abdom		0,02072	0,01736 0,0100	Die Versuche wurden in Galaktose gemacht: 2 g Galaktose, 2 g NaNO, 100 ccm anorgani-

oder organischen Säuren durch Atmungsenzyme. Die salpetrige Säure wurde, wie aus den Tabellen zu ersehen ist, weiter bis zu Ammoniak reduziert und dieses mit Kohlenstoffketten zu stickstoffhaltigen Substanzen zusammengefügt, die dann wahrscheinlich die Aminosäuren ergeben, aus denen sich durch formierende Kondensationen bei Gegenwart von Schwefel und Phosphor Eiweißstoffe gebildet haben.

Wir haben hier einen ähnlichen Prozeß vor uns, wie er sich in jeder chlorophyllhaltigen Pflanzenzelle abspielt. Der Unterschied ist hier nur der, daß die chlorophyllhaltige Zelle sich selbst durch photosynthetische Prozesse geeignete Kohlenhydrate oder organische Säuren produziert und bei Gegenwart von Salpetersäure oder Ammoniak, Phosphorsäure, Schwefelsäure, Kalium, Magnesium und Eisen die Eiweißsynthese vor sich geht, während bei unseren Studien der Zweck der war, nachzuforschen, welche Form von Kohlenhydraten und organischen Säuren bei Gegenwart von Salpeterstickstoff zum raschen Aufbau von Eiweiß am besten geeignet ist, wobei sich der Stoffwechselprozeß einmal in der Denitrifikation der Nitrate

bis zu elementarem Stickstoff charakterisiert, das andere Mal in der Überführung der Nitrate bloß in Ammoniak.

Die gesammelten und von der Nährflüssigkeit befreiten Reinkulturen, und zwar die Ammonisationsbakterien und Denitrifikationsbakterien ergaben in der Trockensubstanz $9^1/2$ bis $14^0/0$ Stickstoff. Aus den angeschlossenen Tabellen J und K sieht man, wie die Hexosen, und zwar die Glucose, Fructose und Galaktose, von den Pentosen die Xylose und Arabinose, von den organischen Säuren die Milchsäure, Valeriansäure und Bernsteinsäure geeignet sind, bei allen angeführten Spezies von Bakterien zur Bildung von Stickstoff in organischer Form aus der Salpetersäure, die sich in der Lösung vorfindet, beizutragen.

Bei meinen Untersuchungen haben sich von dem Gesamtstickstoff bis $33^{\,0}/_{\!_0}$ in organischer Form, und zwar namentlich in Eiweißform umgewandelt.

Tabelle J.

	Fest	gestel	lte Me Näh	enge rmed	organ ium e	ische nthal	n Stic	kstoff	s im
Mikrobenart	Glucose	Lävulose	Galaktose	Saccha-	Arabinose	× Xylose	Milch-	o Valerian- säure	Bernstein-
					, ,0				
Proteus vulgaris	7,59	5,52	7,24	_	-	3,97	10,34		
Proteus Zenkeri	11,35	1,72		_	2,41	_	5,17	3,45	_
Bac. mesent. vulgaris .		5,11	4,84	_	7,57	l —	3.45	3.45	12,07
Bac. ramos. n. liquef	9 83	1,79	3,45	_		3,77	5,17	5,17	
Bac. subtilis		5,30	4,14		11,90		6,90		
Bac. mycoides	13,36		5,17		2,71			6,90	
	10,34		0,11		۵,۱۱		19.07	13,79	
		0,50	_	_	= 17	6.00	12,01	10,19	0,11
Clostridium gelat	11,21		_	_	5,17		_	-	_
Bac. prodigiosus	—		_	_	6,90	4,46	_		-
Bac. typhi abd	_	0,52	11,95	_	5,52		l —	5,17	. —

Das Ergebnis dieser Untersuchungen könnte zur Annahme führen, daß die große Streitfrage, ob die Eiweißsynthese in der chlorophyllhaltigen Zelle im Dunkeln oder bei Einwirkung von Sonnenstrahlen vor sich geht, eine vollständig müßige ist, denn wenn die chlorophyllhaltige Zelle durch photosynthetische

Tabelle K.

	Fest	gestel			organ um e		n Stic tend	kstoff	s im
Mikrobenart	Glucose	Lävulose	Galaktose	Saccha- rose	Arabinose	Xylose	Milch- säure	Valerian- săure	Bernstein- säure
	%	º / ₀	º /o	°/ ₀	°/ ₀	º / ₀	%	º / ₀	%
Bact. Hartlebi	6,03	12,41	12,41	15,52	33,62	7,50	13,79	8,62	12,50
Bac. fluoresc. liquefac.	10,34	6,90	5,17	_	7,57	9,31	8,62	12,93	10,34
Bac. pyocyaneus	6,90	8,62	5,17	_	8,25	_	12,07	13,79	12,07
Bact. Stutzeri	5,95	5,17	_	_	3,39	2,15	15,52	13,79	12,07
Bact. filefaciens	11,08	1,72	3,20	-	1,72	2,59	17,24	13,79	15,52
Bact. centropunctatum	8,62	8,62	_	_	_	2,76	13,79	10,34	10,34
Bact. nitrovorum	1,59	8,45	5,17	_	1,72	3,88	12,07	12,07	8,62
Bac. denitrificans	3,45	_	5,05	_	3,10	1,38	<u> </u>	5,17	_
Bact. coli commune .	5,17	2,59	1,72	_	_	5,46	13,79	5,17	_
Bac. denitrificans +		1							
Bact. coli commune.	6,90	6,19	5,60	-	-	9,27	8,62	_	9,48

Prozesse die geeigneten Kohlenhydrate oder organischen Säuren zu bilden verhindert ist, so ist auch selbst bei Gegenwart von Salpetersäure und allen übrigen anorganischen Nährstoffen die Eiweißsynthese einfach unmöglich; ist aber ein Vorrat an plastischen Kohlenhydraten bereits vorhanden, dann kann die Eiweißsynthese auch im Dunkeln vor sich gehen, und die Chlorophyllzelle arbeitet wie jede von uns in Beobachtung gezogene Bakterienzelle.

Die Eiweißsynthese der Heterotrophen kann nur bei genügendem Vorrat von leicht abbaufähigen Kohlenhydraten, organischen Säuren der aliphatischen Reihe und anorganischen Nährstoffen vor sich gehen. Bei künstlicher Zufuhr von organischen Verbindungen ist es sogar gelungen, ein Wachstum der chlorophyllhaltigen Zelle im Dunkeln zu erzielen. Ich verweise hier nur auf die Versuche von Laurent¹) und Lefèvre²). Die Untersuchungen von Artari und Pampaloni³) ergaben, daß niedere Pflanzen, namentlich gewisse Algen, auch wenn sie zur Kohlensäureausnutzung eingerichtet sind, häufig in Dunkelkultur auf Kosten von Glucose und Pepton (oder anderer Stickstoffquellen) ganz vortrefflich wachsen.

¹⁾ Laurent, Rev. gén. de Bot. 1904.

²⁾ Ludwig Jost, Vorlesungen über Pflanzenphysiologie 1908.

Tabelle L.

	des	Menge des Stickstoffs in Form von	ickstoffs in	Form von	Ges des	Von der des Stic	Von der Gesamtmenge des Stickstoffs entfällt auf	nenge itfällt		
Bact. Hartlebi	Dauer Versuches		stickstoff Amido- stickstoff	Monoamino- stickstoff Diamino-	samtmenge Stickstoffs	Amido- stickstoff	Diamino- stickstoff	Monoamino- stickstoff	Anmerkungen	Leurumion un
In 1000 com Wasser waren:	Tage		90	b 0	80	%	%	%		u 111
$^{1}/_{10}$ Molekulargewicht Xylose (15 g) $^{1}/_{10}$, n NaNO ₂ (8,5 g)	61	in der Kultur 0,0042 0,0334 0,02352 0,06112 6,87 in der Lösung 0,01008 0,01008 0,03248 0,05264 19,15),0042 0,03; 0,01008 0,010	34 0,02352 308 0,03248	0,06112		54,65 19,14	38,48 61,71	Die Lösnna	" Ormol "
1/10 " Glucose (18 g) 1/10 " NaNO ₈ (8,5 g)	31	in der Kultur 0,00392 0,01872 0,02002 0,03766 10,41 in der Lösung 0,01288 0,01288 0,02800 0,05376 23,97),00392 0,013),01288 0,013	372 0,02002 288 0,02800	0,03766 0,05376		36,43 23,97	53,16 52,06	hatte die Gärung eben	INTORO TI
do.	30	in der Kultur 0,00378 0,0119 0,02072 0,0364 in der Lösung 0,01176 0,01792 0,03024 0,05992),00378 0,01),01176 0,01	19 0,02072 792 0,03024		10,38 19,64	32,69 29,92	56,93	beendet.	u uoi i
1/10 Molekulargewicht Saccharose (34,2 g) 1/10 " NaNO ₂ (8,5 g).	24	in der Kultur 0,00462 0,0233 0,04032 0,06724 in der Lösung 0,02296 0,02352 0,05096 0,09744),00462 0,02:),02296 0,02:	23 0,04032 352 0,05096	0,06724	6,87	33,16 24,13	59,97 52,30	Die Lösung war im Begriffe, die Gärung zu been-	попуси
do.	31	in der Kultur 0,00476 0,01694 0,02996 0,05166 in der Lösung 0,0308 0,03024 — —),00476 0,010),0308 0,030	394 0,02996 324 —	0,05166	9,21	32,79	18,00	den; enthielt noch Spuren von Nitriten und Nitraten.	Zone.
Es ist zu bemerken, daß in der Nährlösung Phosphat-, Sulfat- und Chlorion neben Kalium-, Magnesium- und Eisenion in genigenden Mangen vorhanden waren	Nährlös	ung Phosphat-	, Sulfat- u	nd Chlorio	n neben	Kalium	., Март	esium-	und Eisenion	19

in genügenden Mengen vorhanden waren.

Die Mengen der einzelnen Formen des Stickstoffes sind in Tabelle L genau angegeben.

Der Stickstoff ist in drei Formen im Eiweißmolekül vorhanden. Ein kleiner Teil liefert bei der Behandlung mit Salzsäure direkt Ammoniak, ein Vorgang, der aller Wahrscheinlichkeit nach darauf zurückzuführen ist, daß am Aufbau des Eiweißmoleküls Körper teilnehmen, die die Amidgruppe enthalten. Der Hauptteil aber findet sich in den Spaltungsprodukten in Form von Monoaminosäuren wieder, zum Beispiel als Asparaginsäure, als Leucin, Tyrosin usw. Ein dritter Anteil endlich, der wieder kleiner ist, findet sich auch in Form von Diaminosäuren, wie Histidin, Arginin, Lysin usw. Aus allen diesen Körpern setzt sich das Eiweiß zusammen, und wir haben es als ein Kondensationsprodukt der Moleküle dieser Substanzen anzusehen.

Aus der Tabelle L ersieht man ganz deutlich, daß von der Gesamtmenge des Stickstoffs am meisten auf Monoaminostickstoff, weniger schon auf Diaminostickstoff und am wenigsten auf Amidostickstoff entfällt.

Wenn man die Zusammensetzung der Bakterien verfolgt, so sieht man, daß die Reinasche fast ausschließlich aus Phosphor und Kalium besteht. Dies ist ein eklatanter Beweis, daß die Entwicklung der Bakterien durch genügende Quantitäten von Phosphatund Kaliumion im Nährmedium bedingt wird. Aus der Zusammensetzung der Reinasche kann man auf die Unentbehrlichkeit der Elementarstoffe Phosphor und Kalium für den Bau- und Betriebsstoffwechsel der Organismen schließen. Ich lasse hier einige Beispiele folgen:

Azotobacter chroccoccum.

In der Trockensubstanz wurden gefunden:															
	Gesamtphos	ph	or	sä	ur	e a .	nh	yd:	rid	4	,93	bis	5,2	0/0	
	Kaliumoxyd	ĺ.								. 2	,41	bis	2,65	50/0	
	Reinasche.									. 8	,2	bis	8,6	0/0	
	Bacillus mycoides.														
In der Trockensubstanz waren vorhanden:															
	Gesamtphos	ph	or	s ä	ur	eai	nh	yd	rid				4,07	7º/o	
	Kaliumoxyo	ì											2,27	7°/0	
	Reinasche						•	•			•		7,50)°/0	

Bac. fluorescens liquefaciens.

In	der Trocke	nsı	ıbı	sta	nz	W	ar	en	zι	ιk	cor	ıst.	at	ieren:
	Gesamtpho	sp)	ho	rsä	ur	ea	nh	yd	rid					5,32°/0
	Kaliumoxy	d												$0.83^{\circ}/_{0}$
	Reinasche													6,480/0

Meine Versuche über die Unentbehrlichkeit des Kaliumions für die Ernährung der Bakterienzelle wurden in derselben Weise wie die vorerwähnten wiederholt, nur mit dem Unterschiede, daß die Bakterien in einem Nährmedium zur Entwicklung kamen, wo überhaupt kein Kaliumion vorhanden war. Glaswände der Kolben, in denen sich das Nährmedium befand, waren mit einer Paraffinschicht versehen. Ich konnte die Beobachtung machen, daß alle vorerwähnten Mikrobenarten, und zwar die Denitrifikationsbakterien und Ammonisationsbakterien, sich derart mangelhaft entwickelten, daß die chemischen Reaktionen auf Nitrite, Ammoniak sehr schwach waren, so daß man zur quantitativen Bestimmung nicht schreiten konnte. Natürlich ist auch die Eiweißsynthese nicht vor sich gegangen. Ohne Kaliumion kann der Aufbau der Bakterien, also die Eiweißsynthese, nicht stattfinden, welches Faktum man zugunsten der Theorie Weevers annehmen kann. Natürlich gehen die Stoffwechselprozesse der Heterotrophen anders vor sich als bei den autotrophen Pflanzen. Bei den Heterotrophen fällt dem Kaliumion eine viel wichtigere Funktion bei den Dissimilationsprozessen zu. Wie ich gefunden habe, atmen alle stickstoffreichen Organismen, und Organe viel energischer als die stickstoffarmen, und die Dissimilationsprozesse gehen nur dann normal vor sich, wenn Phosphor und Kalium in genügenden Mengen vertreten sind.

Bei der anaerobiotischen Atmung atmet 1 g Bakterienmasse von Clostrydium butyricum, auf Trockensubstanz berechnet, durchschnittlich in 24 Stunden 0,511 g Kohlendioxyd aus. 1 g Bakterienmasse von Bacterium Hartlebi, auf Trockensubstanz berechnet, atmet bei einer Temperatur von 25° durchschnittlich in 24 Stunden 0,27 g Kohlendioxyd aus. Bei der aerobiotischen Atmung atmet 1 g Bakterienmasse von Azotobacter, auf Trockensubstanz berechnet, in 24 Stunden durchschnittlich 1,2729 g Kohlendioxyd aus. Bei 1 g Bakterienmasse von Bacillus mycoides, auf Trockensubstanz berechnet, beträgt das ausgeatmete Kohlendioxyd in 24 Stunden durchschnittlich 0,213 g¹).

Was für Unterschiede sich in der Atmungsintensität der Zuckerrübenwurzel in der Aerobiose ergeben, erhellt schon daraus, daß 2 g Pflanzenmasse, auf Trockensubstanz berechnet, in 24 Stunden bei 25°

nach 25 Vegetationstagen . . 0,1305 g Kohlendioxyd,
n 50 n . . 0,0420 g n
n 100 n . . 0,0125 g n

ausatmet. Es beträgt somit die Differenz zwischen dem I. und III. Stadium 0,1180 g, zwischen dem I. und III. Stadium 0,0885 g und zwischen dem II. und III. Stadium 0,0295 g ausgeatmeten Kohlendioxyds.

Aus allen diesen Atmungsversuchen geht hervor, daß die Bakterienmasse in der Aerobiose vielenergischer atmet als das junge Wurzelsystem der Zuckerrübe, das sich durch eine besondere Atmungsintensität kennzeichnet. Eine frappante Differenz ergibt sich schon bei den Zuckerrüben wurzeln nach 100 Vegetationstagen, wo in 24 Stunden bloß 0,0125 g Kohlendioxyd ausgeatmet wurden. Betrachten wir nun die Energie des Atmungsprozesses bei Azotobacter chroococcum, so sehen wir, daß die Intensität 50 mal größer ist als bei dem Wurzelsystem der Zuckerrübe.

Interessant ist, daß die Atmungsintensität der Zuckerrübenwurzel mit dem Stickstoff- und Kaliumgehalt in einem gewissen harmonischen Zusammenhange steht. Ich verweise hier auf meine Arbeit: Über die Zuckerabbau fördernde Wirkung des Kaliums. Ein Beitrag zur Kenntnis der alimentären Glucosurie, Zeitschr. f. physiol. Chem. 62, Heft 1, 1909.

Die Bakterienzellen enthalten äußerst energische Atmungsenzyme (glucolytische Enzyme) und verbrau-

²) Julius Stoklasa, Methoden zur Bestimmung der Exkrete bei der Atmung der Bakterienzelle. Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden von E. Abderhalden, Verlag von Urban & Schwarzenberg, Wien-Berlin 1910.

chen eine große Menge abbaufähiger Kohlenhydrate. Der so energische Stoffwechsel und der Verbrauch einer so großen Menge von Atmungsmaterial gibt uns eine Erklärung dafür, daß die abbaufähigen Kohlenhydrate oder die aliphatischen Säuren in neutraler Form nicht nur das Material für die Eiweißbildung, sondern auch die für diese Prozesse nötigen Energiequellen liefern. Dem Kaliumion ist bei dem Aufbau der Eiweißstoffe in der Bakterienzelle diejenige physiologische Funktion zugewiesen, daß es wahrscheinlich als Kondensationsmittel dient und bei den katalytischen Prozessen beteiligt ist.

Nun treten wir zur Kenntnis der Eiweißbildung in den höheren Pflanzen. Meine Experimente hatten die Tendenz zu verfolgen, wie die Eiweißsynthese vor sich geht, wenn im Nährmedium kein Kaliumion vorhanden ist. Zu diesen Untersuchungen wählte ich eine Pflanze, die verhältnismäßig die größte Menge Kaliumion aus dem Boden resorbiert, das ist die Zuckerrübe (Beta vulgaris). Die Keimpflanzen entwickelten sich in einem Sand, der mit konzentrierter kochender Salzsäure so lange ausgewaschen wurde, bis keine Spuren von Kaliumoxyd mehr nachweisbar waren. Dann wurde der Sand zuerst mit heißem und kaltem Wasser ausgewaschen, bis die Chlorreaktion vollständig verschwand. Hierauf wurde der Sand mit durchgesiebten getrockneten Torf gemischt. Der Torf wurde ebenfalls mit kochender Salzsäure und warmem Wasser gut ausgewaschen, bis keine Spuren von Kalium konstatierbar waren. Das Gemisch, bestehend aus 90°/o Sand und 10°/o Torf, wurde in 34 Vegetationsgefäße gefüllt; in jedem Vegetationsgefäß befanden sich 18 kg Sand. Die Gefäße befanden sich in einem Vegetationshaus, wo das Licht in vollem Maße zur Wirkung kommen konnte. Natürlich wurden die Vegetationsgefäße vor Regen geschützt, in dem Glashause auf Rollwagen gegeben und bei schöner Witterung ins Freie gestellt. Sie wurden in zwei Gruppen geteilt und zwar:

- 1. Vegetationsgefäße, wo sich die Zuckerrübe in einem Nährmedium bei Gegenwart von Kaliumion entwickelte und
 - 2. in einem Nährmedium ohne Kaliumion.

Die Nährlösung, mit der die Vegetationsgefäße begossen wurden, hatte folgende Zusammensetzung:

In 1 l derselben befanden sich:

1,15 g Kaliumnitrat,

0,5 g Monocalciumphosphat,

0.2 g Calciumsulfat,

0,10 g Magnesiumchlorid,

0,01 g Ferrichlorid,

0,20 g Natriumchlorid.

Bei der zweiten Gruppe, wo sich im Nährmedium kein Kaliumion befand, besaß die Nährlösung nachstehende Zusammensetzung:

In 1 l derselben waren vorhanden:

1,0 g Natriumnitrat,

0,5 g Monocalciumphosphat,

0,2 g Calciumsulfat,

0,1 g Magnesiumchlorid,

0,01 g Ferrichlorid,

0,2 g Natriumchlorid.

Die größte Sorgfalt wurde den Zuckerrübenkulturen gewidmet; in den Vegetationsgefäßen befanden sich während der ganzen Vegetationszeit ungefähr 15 bis $17^{\circ}/_{\circ}$ Wasser. Zu jedem Vegetationsgefäß wurden von der vorerwähnten Nährlösung 4000 ccm von Beginn der Entwicklung bis zum 15. Juni gleichmäßig zugesetzt. Die erste Gruppe der Vegetationsgefäße erhielt eine Nährlösung mit Kaliumion, die zweite eine solche ohne Kaliumion. Pro ein Vegetationsgefäß wurden in 1 Woche der Entwicklung 500 ccm Nährlösung zugesetzt.

Wenn wir die Entwicklung der Zuckerrübe während der ganzen Vegetation im Nährmedium bei Gegenwart und Abwesenheit von Kalium betrachten, so ergibt sich uns ein interessantes, lehrreiches Bild.

Entwicklung der Zuckerrübe am 3. Juli.

Im Nährmedium bei Gegenwart von Kaliumion.

Blätter und Stiele in der Trockensubstanz:

Gesamtstickstoff $3,48^{0}/_{0}$, Stickstoff in Eiweißform . . . $2,58^{0}/_{0}^{1}$).

Wurzelsystem in der Trockensubstanz:

Gesamtstickstoff $1,2^{-0}/_{0}$, Stickstoff in Eiweißform . . $0,85^{-0}/_{0}$.

¹⁾ Die Bestimmung der Eiweißstoffe geschah nach der modifizierten Methode von Schjerning (Zeitschr. f. analyt. Chem. 39, 545 u. 633, 1900.

Nährmedium ohne Kaliumion.
Blätter und Stiele in der Trockensubstanz:
Gesamtstickstoff $3,06^{\circ}/_{0}$,
Stickstoff in Eiweißform 2,43%.
Wurzelsystem in der Trockensubstanz:
Gesamtstickstoff $\dots 1,06^{\circ}/_{\circ}$,
Stickstoff in Eiweißform $0.72^{\circ}/_{0}$.
Entwicklung der Rübe am 25. Juli.
Nährmedium mit Kaliumion.
Blätter und Stiele in der Trockensubstanz:
Gesamtstickstoff $3,08^{\circ}/_{\circ}$,
Stickstoff in Eiweißform $2,3^{\circ}/_{\circ}$.
Wurzelsystem in der Trockensubstanz:
Gesamtstickstoff $1,16^{\circ}/_{0}$,
Stickstoff in Eiweißform $0.72^{\circ}/_{0}$.
Nährmedium ohne Kaliumion.
Blätter und Stiele in der Trockensubstanz:
Gesamtstickstoff $\dots 2,86^{0}/_{0}$,
Stickstoff in Eiweißform $2,03^{\circ}/_{0}$.
Wurzelsystem in der Trockensubstanz:
Gesamtstickstoff 0,98°/ ₀ ,
Stickstoff in Eiweißform $0.63^{\circ}/_{\circ}$.
Entwicklung der Rübe am 30. September.
Nährmedium mit Kaliumion.
Blätter und Stiele in der Trockensubstanz:
Gesamtstickstoff 2,98°/ ₀ ,
Stickstoff in Eiweißform $2,16^{0}/_{0}$. Wurzelsystem in der Trockensubstanz:
Wurzensystem in der Frockensubstanz: Gesamtstickstoff $1,04^{\circ}/_{0}$,
Stickstoff in Eiweißform $0.86^{\circ}/_{0}$.
Nährmedium ohne Kaliumion.
Blätter und Stiele in der Trockensubstanz:
Gesamtstickstoff $3,04^{\circ}/_{0}$,
Stickstoff in Eiweißform $2,21^{\circ}/_{0}$.
Wurzelsystem in der Trockensubstanz:
Gesamtstickstoff $\dots \dots 0,86^{\circ}/_{0}$,
Stickstoff in Eiweißform $0.73^{\circ}/_{0}$.
Diese Daten zeigen ganz deutlich, daß der Rüben
organismus bei Abwesenheit von Kaliumion im Nähr
-

medium fast dieselben Quantitäten von Gesamtstickstoff sowie Stickstoff in Eiweißform aufwies, als bei Gegenwart von Kaliumion im Nährmedium. Ganz andere Verhältnisse aber finden wir bei der Zuckerproduktion, die bei Nichtvorhandensein von Kaliumion stark gesunken ist. Wir fanden:

Zucker nach der Inversion.					
Am 3. Juli im Nährmedium bei Gegenwart von					
Kaliumion:					
In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele 10,84°/0,					
" des Wurzelsystems $48,67^{\circ}/_{\circ}$.					
Im Nährmedium bei Abwesenheit von Kaliumion:					
In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele 7,43%,					
" " des Wurzelsystems $36,26^{\circ}/_{0}$.					
Am 25. Juli befanden sich im Nährmedium mit					
Kalium:					
In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele 20,36°/0,					
" " des Wurzelsystems $70,59^{\circ}/_{\circ}$.					
Im Nährmedium ohne Kalium:					
In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele 9,86°/0,					
" " des Wurzelsystems $35,99^{\circ}/_{\circ}$.					
Am 30. September waren bei Gegenwart von Kalium					
im Nährmedium vorhanden:					
In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele 22,84°/0,					
" " des Wurzelsystems $71,54^{01}_{0}$.					
Bei Abwesenheit von Kalium im Nährmedium:					
In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele 9,54%,					
" des Wurzelsystems $36,48^{\circ}/_{\circ}$.					
Aus den Analysenresultaten geht hervor, daß die					
Zuckerproduktion in den Chlorophyllapparaten und					
im Wurzelsystem der Rüben, wo sich im Nährmedium					
kein Kalium befand, gegenüber den Normalrüben					
zurückstand. Der Zuckergehalt schwankt derart, daß					
man auf den ersten Blick erkennt, was für Bedeutung					

Daß der Aufbau neuer lebender Materie in dem Nährmedium ohne Kalium ein geringerer war als im Nährmedium mit Kalium, zeigt uns deutlich das Ge-

das Kalium für die Bildung der Kohlenhydrate in

dem Organismus der Zuckerrübe hat.

wicht der Trockensubstanz der einzelnen Rübenexemplare.

Von mehreren Exemplaren betrug das durchschnittliche Gewicht der Trockensubstanz einer ganzen Rübe wie folgt:

Am 3. Juli.							
Bei Gegenwart von Kalium im Nährmedium:							
Trockensubstanzgewicht der Blätter und Stiele 62,54 g.							
" des Wurzelsystems 20,38 g.							
Bei Abwesenheit von Kalium im Nährmedium:							
Trockensubstanzgewicht der Blätter und Stiele 10,54 g.							
" des Wurzelsystems 5,85 g							
Am 25. Juli.							
Bei Vorhandensein von Kalium im Nährmedium:							
Trockensubstanzgewicht der Blätter und Stiele 71,84 g.							
" des Wurzelsystems 32,34 g.							
Bei Abwesenheit von Kalium im Nährmedium:							
Trockensubstanzgewicht der Blätter und Stiele 10,86 g.							
des Wurzelsystems 9,43 g.							
Am 30. September.							
Nährmedium mit Kalium:							
Trockensubstanzgewicht der Blätter und Stiele 58,64 g.							
" des Wurzelsystems 85,4 g.							
Nährmedium, wo Kalium fehlte:							
Trockensubstanzgewicht der Blätter und Stiele 10,44 g.							
des Wurzelsystems 10,52 g.							
Berechnen wir nun, wieviel in einem Rübenexemplar							
Gesamtstickstoff, Stickstoff in Eiweißform und Zucker nach							
der Inversion enthalten ist, so finden wir:							

Am 3 Juli

Am 5. Juli.
Bei Gegenwart von Kalium im Nährmedium:
In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele:
Gesamtstickstoff 2,1764 g,
Stickstoff in Eiweißform 1,6135 g,
Zucker 6,7793 g.
In der Trockensubstanz des Wurzelsystems:
Gesamtstickstoff 0,2446 g,
Stickstoff in Eiweißform 0,1732 g,
Zucker 9,9189 g.

Gesamtstickstoff	In dem ganzen Organismus einer Rübe befanden sich:
Stickstoff in Eiweißform Zucker	On what have generally a series and series are series and series and series and series are series and series and series and series are series are series and series are series and series are series are series and series are series are series and series are series are series are series and series are series a
Zucker	Gesamtstickston
Bei Abwesenheit von Kalium im Nährmedium: In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele: Gesamtstickstoff	
In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele: Gesamtstickstoff 0,3225 g, Stickstoff in Eiweißform 0,2561 g, Zucker 0,7831 g. In der Trockensubstanz des Wurzelsystems: Gesamtstickstoff 0,0620 g, Stickstoff in Eiweißform 0,0421 g, Zucker 2,1212 g. In dem ganzen Organismus der Rübe waren vorhanden: Gesamtstickstoff 0,3845 g, Stickstoff in Eiweißform 0,3845 g, Stickstoff in Eiweißform 0,2982 g, Zucker 2,9043 g. Am 25. Juli. Bei Vorhandensein von Kalium im Nährmedium: In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele: Gesamtstickstoff 2,2127 g, Stickstoff in Eiweißform 1,6523 g, Zucker 14,6266 g. In der Trockensubstanz des Wurzelsystems: Gesamtstickstoff 0,3751 g, Stickstoff in Eiweißform 0,2328 g, Zucker 22,8288 g. In dem ganzen Organismus einer Rübe waren zugegen: Gesamtstickstoff 2,5878 g, Stickstoff in Eiweißform 1,8851 g, Zucker 37,4554 g. Bei Abwesenheit von Kalium im Nährmedium: In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele: Gesamtstickstoff 0,3106 g, Stickstoff in Eiweißform 0,2205 g, Zucker 1,0708 g. In der Trockensubstanz des Wurzelsystems: Gesamtstickstoff 0,0924 g, Stickstoff in Eiweißform 0,0924 g, Stickstoff in Eiweißform 0,0594 g,	Zucker
Gesamtstickstoff 0,3225 g, Stickstoff in Eiweißform 0,2561 g, Zucker 0,7831 g. In der Trockensubstanz des Wurzelsystems: Gesamtstickstoff 0,0620 g, Stickstoff in Eiweißform 0,0421 g, Zucker 2,1212 g. In dem ganzen Organismus der Rübe waren vorhanden: Gesamtstickstoff 0,3845 g, Stickstoff in Eiweißform 0,3845 g, Stickstoff in Eiweißform 0,2982 g, Zucker 2,9043 g. Am 25. Juli. Bei Vorhandensein von Kalium im Nährmedium: In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele: Gesamtstickstoff 2,2127 g, Stickstoff in Eiweißform 1,6523 g, Zucker 14,6266 g. In der Trockensubstanz des Wurzelsystems: Gesamtstickstoff 0,3751 g, Stickstoff in Eiweißform 0,3228 g, Zucker 22,8288 g. In dem ganzen Organismus einer Rübe waren zugegen: Gesamtstickstoff 2,5878 g, Stickstoff in Eiweißform 1,8851 g, Zucker 37,4554 g. Bei Abwesenheit von Kalium im Nährmedium: In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele: Gesamtstickstoff 0,3106 g, Stickstoff in Eiweißform 0,2205 g, Zucker 1,0708 g. In der Trockensubstanz des Wurzelsystems: Gesamtstickstoff 0,0924 g, Stickstoff in Eiweißform 0,0924 g, Stickstoff in Eiweißform 0,09594 g,	
Stickstoff in Eiweißform	
Zucker 0,7831 g. In der Trockensubstanz des Wurzelsystems: 0,0620 g, Stickstoff in Eiweißform 0,0421 g, Zucker 2,1212 g. In dem ganzen Organismus der Rübe waren vorhanden: Gesamtstickstoff Gesamtstickstoff 0,3845 g, Stickstoff in Eiweißform 0,2982 g, Zucker 2,9043 g. Am 25. Juli. Bei Vorhandensein von Kalium im Nährmedium: In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele: Gesamtstickstoff Gesamtstickstoff 2,2127 g, Stickstoff in Eiweißform 1,6523 g, Zucker 14,6266 g. In der Trockensubstanz des Wurzelsystems: Gesamtstickstoff Gesamtstickstoff 0,3751 g, Stickstoff in Eiweißform 0,2328 g, Zucker 22,8288 g. In dem ganzen Organismus einer Rübe waren zugegen: Gesamtstickstoff Gesamtstickstoff 1,8851 g, Stickstoff in Eiweißform 1,8851 g, Stickstoff in Eiweißform 0,3106 g, Stickstoff in Eiweißform 0,2205 g, Zucker 1,0708 g.	Gesamtstickstoff
In der Trockensubstanz des Wurzelsystems: Gesamtstickstoff	
Gesamtstickstoff 0,0620 g, Stickstoff in Eiweißform 0,0421 g, Zucker 2,1212 g.	
Stickstoff in Eiweißform Zucker	
Zucker 2,1212 g. In dem ganzen Organismus der Rübe waren vorhanden: 0,3845 g, Gesamtstickstoff 0,2982 g, Stickstoff in Eiweißform 0,2982 g, Zucker 2,9043 g. Am 25. Juli. Bei Vorhandensein von Kalium im Nährmedium: In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele: Gesamtstickstoff 2,2127 g, Stickstoff in Eiweißform 1,6523 g, Zucker 14,6266 g. In der Trockensubstanz des Wurzelsystems: Gesamtstickstoff 0,3751 g, Stickstoff in Eiweißform 0,2328 g, Zucker 22,8288 g. In dem ganzen Organismus einer Rübe waren zugegen: Gesamtstickstoff 2,5878 g, Stickstoff in Eiweißform 1,8851 g, Zucker 37,4554 g. Bei Abwesenheit von Kalium im Nährmedium: In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele: Gesamtstickstoff 0,3106 g, Stickstoff in Eiweißform 0,2205 g, Zucker 1,0708 g. In der Trockensubstanz des Wurzelsystems: Gesamtstickstoff 0,0924 g, Stickstoff in Eiweißform	Gesamtstickstoff
In dem ganzen Organismus der Rübe waren vorhanden: Gesamtstickstoff	
Clesamtstickstoff	Zucker
Stickstoff in Eiweißform	
Zucker 2,9043 g. Am 25. Juli. Bei Vorhandensein von Kalium im Nährmedium: In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele: 2,2127 g, Stickstoff in Eiweißform 1,6523 g, Zucker 14,6266 g. In der Trockensubstanz des Wurzelsystems: 0,3751 g, Stickstoff in Eiweißform 0,2328 g, Zucker 22,8288 g. In dem ganzen Organismus einer Rübe waren zugegen: Gesamtstickstoff 2,5878 g, Stickstoff in Eiweißform 1,8851 g, Zucker 37,4554 g. Bei Abwesenheit von Kalium im Nährmedium: In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele: 0,3106 g, Stickstoff in Eiweißform 0,2205 g, Zucker 1,0708 g. In der Trockensubstanz des Wurzelsystems: 0,0924 g, Gesamtstickstoff 0,0924 g, Stickstoff in Eiweißform 0,0594 g,	CODUMENDO
Am 25. Juli. Bei Vorhandensein von Kalium im Nährmedium: In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele: Gesamtstickstoff	
Bei Vorhandensein von Kalium im Nährmedium: In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele: Gesamtstickstoff	Zucker
In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele: Gesamtstickstoff	
Gesamtstickstoff	
Stickstoff in Eiweißform	In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele:
Stickstoff in Eiweißform	Gesamtstickstoff 2,2127 g,
Zucker	Stickstoff in Eiweißform 1,6523 g,
Gesamtstickstoff	Zucker $14,6266$ g.
Stickstoff in Eiweißform 0,2328 g, Zucker	In der Trockensubstanz des Wurzelsystems:
Stickstoff in Eiweißform 0,2328 g, Zucker	Gesamtstickstoff 0,3751 g,
In dem ganzen Organismus einer Rübe waren zugegen: Gesamtstickstoff	Stickstoff in Eiweißform 0,2328 g,
In dem ganzen Organismus einer Rübe waren zugegen: Gesamtstickstoff	Zucker
Stickstoff in Eiweißform 1,8851 g, Zucker	In dem ganzen Organismus einer Rübe waren zugegen:
Zucker	Gesamtstickstoff 2,5878 g,
Bei Abwesenheit von Kalium im Nährmedium: In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele: Gesamtstickstoff 0,3106 g, Stickstoff in Eiweißform 0,2205 g, Zucker 1,0708 g. In der Trockensubstanz des Wurzelsystems: Gesamtstickstoff 0,0924 g, Stickstoff in Eiweißform 0,0594 g,	
In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele: Gesamtstickstoff 0,3106 g, Stickstoff in Eiweißform 0,2205 g, Zucker 1,0708 g. In der Trockensubstanz des Wurzelsystems: Gesamtstickstoff 0,0924 g, Stickstoff in Eiweißform 0,0594 g,	Zucker
Gesamtstickstoff 0,3106 g, Stickstoff in Eiweißform 0,2205 g, Zucker 1,0708 g. In der Trockensubstanz des Wurzelsystems: Gesamtstickstoff 0,0924 g, Stickstoff in Eiweißform 0,0594 g,	
Stickstoff in Eiweißform 0,2205 g, Zucker 1,0708 g. In der Trockensubstanz des Wurzelsystems: Gesamtstickstoff 0,0924 g, Stickstoff in Eiweißform 0,0594 g,	In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele:
Stickstoff in Eiweißform 0,2205 g, Zucker 1,0708 g. In der Trockensubstanz des Wurzelsystems: Gesamtstickstoff 0,0924 g, Stickstoff in Eiweißform 0,0594 g,	Gesamtstickstoff 0,3106 g,
In der Trockensubstanz des Wurzelsystems: Gesamtstickstoff 0,0924 g, Stickstoff in Eiweißform 0,0594 g,	Stickstoff in Eiweißform 0,2205 g,
Gesamtstickstoff 0,0924 g, Stickstoff in Eiweißform 0,0594 g,	
Stickstoff in Eiweißform 0,0594 g,	
Stickstoff in Eiweißform 0,0594 g,	Gesamtstickstoff 0,0924 g,
Zucker 3,3938 g.	Stickstoff in Eiweißform 0,0594 g,
	Zucker 3,3938 g.

In dem ganzen Organismus einer Rübe waren konstatierbar:						
Gesamtstickstoff 0,4030 g,						
Stickstoff in Eiweißform 0,2799 g,						
Zucker 4,4646 g.						
Am 30. September.						
-						
Bei Gegenwart von Kalium im Nährmedium: In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele:						
Gesamtstickstoff 1,7475 g,						
Stickstoff in Eiweißform 1,2666 g,						
Zucker						
In der Trockensubstanz des Wurzelsystems:						
Gesamtstickstoff 0,8882 g,						
Stickstoff in Eiweißform 0,7344 g,						
Zucker						
In dem ganzen Organismus einer Rübe befanden sich:						
Gesamtstickstoff 2,6357 g,						
Stickstoff in Eiweißform 2,0010 g,						
Zucker 74,4886 g.						
Bei Abwesenheit von Kalium im Nährmedium:						
In der Trockensubstanz der Blätter und Stiele:						
Gesamtstickstoff 0,3174 g,						
Stickstoff in Eiweißform 0,2307 g,						
Zucker 0,9960 g.						
In der Trockensubstanz des Wurzelsystems:						
Gesamtstickstoff 0,0905 g,						
Stickstoff in Eiweißform 0,0768 g,						
Zucker 3,8377 g.						
In dem ganzen Organismus einer Rübe waren nachweisbar:						
Gesamtstickstoff 0,4079 g,						
Stickstoff in Eiweißform 0,3075 g,						
Zucker 4,8337 g.						
Die hei meinen Versuchen vom Gesamtorganismus						

Die bei meinen Versuchen vom Gesamtorganismus einer Zuckerrübe in verschiedenen Stadien produzierte Menge von Proteinstoffen und Zucker ist sehr interessant. Es wurden am 3. Juli bei Gegenwart von Kaliumion im ganzen Organismus einer Rübe 2,42 g Gesamtstickstoff, 1,79 g Stickstoff in Eiweißform und 16,69 g Zucker gefunden.

Bei Abwesenheit von Kaliumion im Nährmedium waren 0,38 g Gesamtstickstoff, 0,29 g Stickstoff in Eiweißform und 2,90 g Zucker konstatierbar.

Am 25. Juli waren bei Gegenwart von Kaliumion im Nährmedium im ganzen Organismus einer Rübe 2,58 g Gesamtstickstoff, 1,88 g Stickstoff in Eiweißform und 37,45 g Zucker nachweisbar.

Als Kaliumion im Nährmedium fehlte, waren 0,40 g Gesamtstickstoff, 0,27 g Stickstoff in Eiweißform und 4,46 g Zucker vorhanden.

Am 30. September waren bei Anwesenheit von Kaliumion im Nährmedium im ganzen Organismus einer Rübe 2,63 g Gesamtstickstoff, 2,0 g Stickstoff in Eiweißform und 74,48 g Zucker zugegen.

Bei Abwesenheit von Kaliumion im Nährmedium befanden sich 0,40 g Gesamtstickstoff, 0,30 g Stickstoff in Eiweißform und 4,83 g Zucker.

Wie wir aus diesen Zahlen ersehen, ergeben sich hier sowohl in der Eiweiß- als auch Zuckerproduktion ganz gewaltige Differenzen, obwohl sich die Pflanzen in dem Nährmedium mit Kaliumion unter den gleichen Bedingungen wie jene ohne Kaliumion im Nährmedium entwickelten. Die prozentuelle Menge an Zucker war in den Chlorophyllapparaten, sowie in dem Wurzelsystem geringer. Auch die Gesamtproduktion an Zucker hat daselbst eine starke Depression erlitten. Andere Verhältnisse waren bei den Eiweißstoffen zu finden. Die prozentuelle Menge an Eiweißstoffen unterscheidet sich in den Chlorophyllapparaten und dem Wurzelsystem einzelner Rübenexemplare, die sich in einem Nährmedium mit Kaliumion entwickelten, von jener in einem Nährmedium ohne Kaliumion ganz unbedeutend; wesentlichere Differenzen ergeben sich natürlich im Gewichte der Gesamtproduktion an Eiweiß.

In dem Nährmedium ohne Kaliumion sind die Rübenpflanzen in ihrer Entwicklung stark zurückgeblieben. Die Zellbausteine, namentlich die Cellulose, konnten sich nicht bilden, nachdem die photo-

synthetischen Prozesse unter starker Depression vor sich gegangen sind und nicht genügende Quantitäten Kohlenhydrate zum Aufbau neuer lebender Moleküle produziert wurden. Daß die Synthese der Cellulose einen starken Rückgang erlitten hat, ist aus der produzierten Pflanzenmasse zu ersehen. Trotzdem sich in dem Nährmedium genug Stickstoff in Form von Nitraten vorgefunden hat (es wurden ja pro 1 Rübenexemplar 4 g Natriumnitrat benutzt), ist die Eiweißsynthese doch nicht in derselben Weise verlaufen, wie bei den Normalpflanzen, wo Kalium im Nährmedium in genügenden Mengen vorhanden war.

Diejenigen Mengen von Hexosen und Disacchariden, die produziert worden sind, wurden teils durch die Dissimilationsprozesse verbraucht, und es waren für den Aufbau des Eiweißmoleküls nicht genügende Mengen plastischer Kohlenhydrate vorhanden, damit der Aufbau des Eiweißmoleküls vor sich gehen könnte, infolgedessen blieb die Zuckerrübe in ihrer Entwicklung zurück. Die Pflanzenzellen fanden nicht genügenden Zufluß an wichtigen Verbindungen zur Bildung und zum Aufbau ihres Inhaltes, des Plasmas und des Kernes, vor. Die Synthese der Zellbausteine mit der mannigfaltigsten Struktur und Konfiguration konnte durch den Mangel an Kohlenstoff, da die chlorophyllhaltige Zelle nicht allen ihren Funktionen nachkommen konnte, nicht in gewünschter Weise verlaufen.

K. Andrlík hat sich das Problem zu lösen gestellt, wieviel Eiweißstoffe die Rübe im ersten Vegetationsjahr erzeugt und fand aus seinen dreijährigen Versuchen, daß die Eiweißproduktion der Zuckerrübe sehr stark von den Vegetationsfaktoren abhängt.

Das Ergebnis seiner Untersuchungen über die Eiweißernte war das folgende:

Pro 1 ha ergab die Rübenpflanze in trockenen Jahren 4,2 bis 7,0, durchschnittlich 6,1 q Eiweißstoffe;

in Jahren mit ausreichenden Niederschlägen 6,5 bis 9, durchschnittlich 7,9 q Eiweißstoffe.

Erhöhte Gaben von stickstoffhaltigen anorganischen Nährstoffen, eventuell aller Nährstoffe, erhöhen auch die Eiweißbildung auf 8 bis 9 q; besonders ausgiebige Düngung mit Chili-Biochemische Zeitschrift Band 78.

salpeter 10 bis 11 q pro 1 ha, steigert die Eiweißernte auf 9 bis 10,4 q pro 1 ha. Von den Eiweißstoffen sind bei hoher Ernte in den Blättern 70 bis $74^{\,0}/_{0}$, bei niedrigerer Ernte 50 bis $60^{\,0}/_{0}$ aufgespeichert. Alle Bedingungen, die zu einer höheren Blätterernte führen, tragen zur ausgiebigeren Eiweißbildung bei. Zur Erzielung einer großen Eiweißernte ist es unerläßlich, größere Gaben von stickstoffhaltigen anorganischen Nährstoffen anzuwenden. Das Verhältnis zwischen dem gebildeten Gesamteiweiß und dem Zucker in der Wurzel ist nicht konstant; auf 1 Teil Eiweißstoffe können 4,1 bis 13,2 Teile Zucker entfallen.

Andrlík hat bei seinen Untersuchungen das Verhältnis des Gesamteiweiß zu dem Zucker nur in den Wurzeln bestimmt, infolgedessen stimmen seine Zahlen mit meinen Berechnungen, wo ich den Eiweißstickstoff und den Zucker sowohl in den Wurzeln als auch in den Blättern festsetzte, nicht überein. Auf einen Teil Eiweißstickstoff in der ganzen Pflanze entfallen nach meinen Untersuchungen nachstehende Teile Zucker:

Im I. Stadium im Nährmedium mit Kaliumion 9,35,

" " ohne " 9,74.

Im II. Stadium im Nährmedium mit Kaliumion 19,87,

" " ohne " 15,95.

Im III. Stadium im Nährmedium mit Kaliumion 37,23,
n n ohne n 15.75.

Zieht man bloß den Zucker in den Wurzeln in Betracht, so entfallen auf einen Teil des Eiweißstickstoffes in der ganzen Pflanze nachstehende Teile Zucker:

 Im
 I. Stadium
 im
 Nährmedium
 mit Kaliumion
 5,55,

 n
 n
 ohne
 n
 7,11.

 Im
 II. Stadium
 im
 Nährmedium
 mit Kaliumion
 12,12.

 Im
 III. Stadium
 im
 Nährmedium
 mit Kaliumion
 30,53,

 n
 n
 ohne
 n
 12,48.

Berücksichtigt man die Verhältnisse des Eiweißstickstoffes zum produzierten Zucker in der ganzen Pflanze, so sieht man, daß im ersten Stadium das Verhältnis bei Gegenwart und Abwesenheit von Kaliumion im Nährmedium fast gleich ist. Im zweiten Stadium fanden wir bei Anwesenheit von Kaliumion schon ein gewisses Steigen, das sich dann im dritten

Stadium noch in markanterer Weise gezeigt hat. Bei Abwesenheit von Kaliumion im Nährmedium ist das Verhältnis im II. und III. Stadium wenig differierend.

Über die Versuche der Eiweißsynthese bei künstlicher Ernährung junger Pflanzen.

Wie schon von vielen Forschern nachgewiesen wurde, findet bei höheren Pflanzen eine ausgiebigere Eiweißsynthese ohne Licht nur dann statt, wenn den betreffenden Zellen stickstofffreie, im Stoffwechsel begriffene plastische Stoffe, zum Beispiel Hexosen oder Disaccharide, reichlich zu Gebote stehen, also ihre Lebensbedingungen sich den Pilzen nähern. Die höheren Pflanzen können auch im Dunkeln den Stickstoff in Form von Nitrat- oder Ammoniumion assimilieren und eine Eiweißsynthese auf Kosten dieses neu assimilierten Stickstoffs hervorrufen. Die intermediären stickstoffhaltigen Produkte, welche zur Eiweißsynthese dienen, werden bei der Zuckerrübe wahrscheinlich die Aminosäureamide sein.

Die Natur der primär entstehenden organischen Stickstoffverbindungen bei der Eiweißsynthese lassen sich meiner Ansicht nach nicht genau definieren A. Gautier hat darauf aufmerksam gemacht, daß die Salpetersäure durch Formaldehyd zu Cyanwasserstoffsäure reduziert werden kann. Im Jahre 1896 hat Greshoff¹) gefunden, daß bei Pangium edule die Entstehung von HCN bei Gegenwart von Kohlenhydraten und anorganischen Stickstoffverbindungen vor sich geht. Er hat schon damals die Hypothese aufgestellt, daß HCN als primäre organische Stickstoffverbindung in der chlorophyllhaltigen Zelle anzusehen ist. Diese Hypothese wird kräftig unterstützt durch die Ansichten vieler Forscher, wie Pflüger, Latham, Bach usw., nach welchen HCN bei der Bildung und innerhalb des Aufbaues der Eiweißverbindungen von großer Bedeutung ist.

Einen wichtigen Beitrag zur Erforschung der Rolle der Kohlenhydrate bei der Eiweißsynthese hat Em. Treub²) geliefert. Zuerst untersuchte er die Einwirkung des Lichtes auf die Blausäurebildung, und es zeigte sich, daß HCN sich auch

¹⁾ Greshoff, Ann. du Jardin Botanique de Buitenzorg 1896, 13.

^{*)} M. Treub, Neue Untersuchungen über die Rolle der Blausäure in grünen Pflanzen. Ann. du Jardin Botanique de Buitenzorg 1904, 19.

im Dunkeln zu bilden vermag, wie das auch die Untersuchungen an Pangium edule ergeben hatten. Nötig sind dagegen die Kohlenhydrate. In Blättern, welche HCN enthielten, verschwindet diese, wenn man sie in gewöhnliches Wasser bringt, und sie bildet sich sofort wieder, wenn man das Wasser mit einer Zuckerlösung vertauscht. Was die verschiedenen Zuckerarten betrifft, so sind dieselben für die Bildung von HCN von sehr verschiedenem Werte. Hexosengruppe erwiesen sich am günstigsten für die HCN-Bildung Glucose, weniger gut Lävulose, während die Galaktose eine direkt giftige Wirkung zeigte, was um so merkwürdiger ist, als die zur Disaccharidgruppe gehörige Lactose fast ebenso fördernd wirkt, wie die Glucose. Dies stimmt mit den Beobachtungen Laurents1) überein, der im Gegensatz zu Maquenne Eiweißstoffe in Blättern, die auf Lactoselösung gezogen werden, sich bilden sah. Maltose und Saccharose erwiesen sich als weniger geeignet zur Bildung von HCN. Versuche mit Raffinose und Glycerin gaben negative Resultate. Die Bildung der Eiweißstoffe aus zugeführten verschiedenen löslichen Kohlenhydraten bei An- und Abwesenheit des Lichtes hat weiter Zaleski studiert. ja schon aus den Versuchen von Jos. Böhm, W. Schimper, Arthur Meyer, Klebs, Oskar Loew, Bokorny²), Cremer und anderer Forscher bekannt, daß grüne Pflanzen aus verschiedenen Zuckerarten, wenn diese von außen zugeführt werden, Stärke bilden, und daß dieser Prozeß auch im Dunkeln vor sich geht. Den Zuckerarten schließt sich das Glycerin an. Es geht verhältnismäßig leicht innerhalb der Pflanzenzelle in Stärke über. Die Ernährungskraft der organischen Stoffe der höheren Pflanzen hängt mit der chemischen Konstitution der betreffenden Kohlenhydrate zusammen. Es gibt gewiß eine große Anzahl von organischen Stoffen, die auch grüne Pflanzen zu ernähren vermögen und zur Eiweißsynthese verwendet werden können.

Die von Zaleski angestellten Versuche wurden mit etiolierten Keimpflanzen von Vicia Faba Windsor ausgeführt. Die

¹⁾ E. Laurent, Bildung von Eiweiß in den Pflanzen. Brüssel 1888.

²) Th. Bokorny, Weitere Beiträge zur Frage der organischen Ernährung grüner Blütenpflanzen. Diese Zeitschr. 71, 4. und 5. Heft, 1915.

Spitzen wurden auf einer vollständigen und stickstoffreien Nährlösung, welche 5 bis 10 °/0 Rohrzucker enthielt, 4 bis 8 Tage bei mäßigem gewöhnlichen Lichte und unter gelben und blauen Glocken kultiviert. Es zeigte sich, daß in gewöhnlichem Lichte die Eiweißbildung der Menge des aufgenommenen Zuckers parallel geht und daß bei der ersten wie bei der zweiten Strahlenhälfte des Spektrums die Intensität der Eiweißbildung gleich bleibt.

Bezüglich des Vorkommens der Eiweißbildung bei Anwesenheit verschiedener Kohlenhydrate in steriler Kultur wurden von Iwan Schulow¹) Versuche vorgenommen.

Ein Versuch einer sterilen Kultur von Mais im Dunkeln unter Darbietung eines fertigen Kohlenhydrats (Saccharose) hat gezeigt: Assimilation des stickstoffreien organischen Materials, den hemmenden Einfluß von Ammoniumsulfat auf die Entwicklung der Pflanze; bei Anwendung des Ammoniumnitrates anstatt Ammoniumsulfat hat Schulow eine bedeutende Zunahme der Eiweißstoffe konstatiert. Außerdem hat der gegebene Versuch, der nach der gleichen Methode wie der vorhergehende am Licht angestellt worden ist, die Anwendbarkeit und Zuverlässigkeit dieser Methode bekräftigt.

Über die künstliche Ernährung der Samenkeime mit Kohlenhydraten bei Anwesenheit von Nitraten wurden nochmals von W. Zaleski und N. Tutorski²) im pflanzenphysiologischen Institut der Universität Charkow im Jahre 1912 Versuche ausgeführt, die ergaben, daß die Erbsenkeime im Dunkeln auf Kosten der Nitrate, des Ammoniaks und der Asparaginsäure eine ansehnliche Menge (38 % Eiweißstoffe) bilden. Diese Substanzen werden aber indirekt zum Aufbau der Eiweißstoffe verwendet. Die Nitrate werden zuerst durch Abbauprodukte der Saccharose reduziert, und der Stickstoff derselben wird in Ammoniak übergeführt, das zur Bildung der Aminosäuren dient. Die Asparaginsäure wird teils direkt zum Aufbau der Eiweißstoffe verbraucht, größtenteils aber desaminiert und das ge-

¹) Iwan Schulow, Die Eiweißbildung durch höhere Pflanzen in der Dunkelheit (in steriler Kultur). Russ. Journ. f. experim. Landwirtsch. 18, 209, 1912.

^{*)} W. Zaleski und N. Tutorski, Über die künstliche Ernährung der Samenkeime. Diese Zeitschr. 48, 1912.

bildete Ammoniak zur Bildung der Aminosäuren verwendet.

Eigene Experimente. Versuchsmethodik.

Der Zweck meiner Versuche war, eine künstliche Ernährung der Keimlinge bei An- und Abwesenheit des Kaliumions und Lichtes vorzunehmen. Ich führte ähnliche Versuche wie Zaleski und Tutorski betreffs künstlicher Ernährung der Keimlinge aus und verwendete dazu 12 tägige Keimlinge von Zuckerrübe. Die Keimlinge wurden aus den mit Hydroperoxydlösung sterilisierten Samen herausgenommen, rasch mit verdünnter Bromlösung und sterilem Wasser abgewaschen und dann in sterile Vegetationsgefäße gegeben, deren Glaswände mit einer Paraffinschicht versehen und mit einer von Nährlösung getränkten Watte gefüllt waren. Die Nährlösung und die Watte waren gründlich sterilisiert. Jedes Vegetationsgefäß bekam je einen Keimling. Die Keimlinge wurden 23 Tage lang entweder im Lichte oder im Dunkeln zur Entwicklung Die Kulturen erwiesen sich nach Ablauf des Versuches ziemlich steril. Trotz aller Vorsichtsmaßregeln in bezug auf sterile Erhaltung der Keimpflanzen ist es bis jetzt nicht gelungen, eine absolut sterile Aufzucht zu ermöglichen. Infolgedessen bediente ich mich der modifizierten Methode von Petri, deren Beschreibung sich im Centralblatt für Bakteriologie usw. 24. 1909, und in Grafes Nachtrag zum Sterilisieren höherer lebender Pflanzen, Abderhaldens Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden, 8, 1915, befindet, um zu kontrollieren, ob sich Differenzen zwischen den Versuchsergebnissen nach Zaleskis Methode ergeben. Wie wir bei unseren Versuchen konstatieren konnten, waren die Differenzen in den analytischen Resultaten der beiden Methoden der Versuche sehr gering, was ein Beweis ist, daß die kleine Anzahl der Bakterien im Nährmedium bei der Methode nach Zaleski und Tutorski ohne Einfluß auf die biochemischen Prozesse war.

Die sich in Vegetationsgefäßen befindenden Kulturen wurden in große hermetisch verschlossene gläserne Zylinder von 801 Inhalt gegeben und durch die Zylinder täglich 801 kohlendioxydfreie und keimfreie Luft durchgetrieben. Auf dem Boden der Zylinder befand sich eine Glasschale mit starker Kalilauge und zwar ein Teil von Ätzkali und zwei Teile Wasser. Das Kultivieren der Keimlinge

erfolgte in einer Nährlösung, woselbst entweder Kaliumion anoder abwesend war. Die Nährlösung hatte folgende Zusammensetzung:

1. Bei Gegenwart von Kaliumion im Nährmedium.

In 11 der Lösung befanden sich:

1,15 g Kaliumnitrat,
0,5 g Monocalciumphosphat,
0,2 g Calciumsulfat,
0,1 g Magnesiumchlorid,
0,01 g Ferrichlorid,
0,20 g Natriumchlorid.

2. Bei Abwesenheit von Kaliumion im Nährmedium,

In 1 l der Nährlösung waren vorhanden:

1,0 g Natriumnitrat, 0,5 g Monocalciumphosphat, 0,2 g Calciumsulfat, 0,1 g Magnesiumchlorid, 0,01 g Ferrichlorid, 0.20 g Natriumchlorid.

Zur Nährlösung wurden in den Versuchsreihen b, c und d die einzelnen Kohlenhydrate zugesetzt und zwar entweder 2,7 °/₀ Glucose oder 2,7 °/₀ Fructose oder 5,15 °/₀ Saccharose. Die Versuche wurden wie folgt arrangiert:

I. Gruppe der Versuche: Nährlösung mit Kaliumion bei Zusatz von Glucose oder Fructose oder Saccharose.

II. Gruppe der Versuche: Nährlösung ohne Kaliumion bei Zusatz von Glucose oder Fructose oder Saccharose.

Eine Gruppe der Versuche wurde bei Gegenwart von Licht im Glashause, eine andere in der Dunkelkammer vorgenommen. Diese einzelnen Gruppen der Versuche wurden in der Luft bei Ausschluß von Kohlendioxyd ausgeführt. Die Temperatur war immer die gleiche, sie betrug 19 bis 23°C. Neben diesen vorerwähnten Experimenten wurden auch Versuche in freier atmosphärischer Luft bei voller Einwirkung der Sonnenenergie mit und ohne Kaliumion angestellt.

A. Versuche bei Anwesenheit von Licht.				
Die Kulturen befanden sich im Vegetationshause.				
I. Gruppe.				
In der Nährlösung mit Kaliumion. Resultate nach				
23 tägiger Entwicklung der Pflanzen.				
a) Ohne Zusatz von Kohlenhydraten.				
Gewicht von 1000 Pflanzen in der Trockensubstanz . 15,86 g,				
Gesamtstickstoff				
Stickstoff in Eiweißform $1,95^{0/6}$				
Gesamtstickstoff in 1000 Pflanzen 0,49 g,				
Stickstoff in Form von Eiweiß in 1000 Pflanzen 0,31 g,				
b) Bei Gegenwart von Glucose.				
Gewicht von 1000 Pflanzen in der Trockensubstanz . 50,54 g,				
Gesamtstickstoff				
Stickstoff in Form von Eiweiß $2,27^{\circ}/_{0}$,				
Gesamtstickstoff in 1000 Pflanzen 1,59 g,				
Stickstoff in Form von Eiweiß in 1000 Pflanzen 1,15 g,				
c) Bei Gegenwart von Fruktose.				
Gewicht von 1000 Pflanzen in der Trockensubstanz . 49,66 g,				
Gesamtstickstoff				
Stickstoff in Form von Eiweiß $2,32^{0}/_{0}$,				
Gesamtstickstoff in 1000 Pflanzen 1,53 g,				
Stickstoff in Form von Eiweiß in 1000 Pflanzen 1,15 g,				
d) Bei Gegenwart von Saccharose.				
Gewicht von 1000 Pflanzen in der Trockensubstanz . 49,26 g,				
Gesamtstickstoff				
Stickstoff in Form von Eiweiß $2,54^{0}/_{0}$,				
Gesamtstickstoff in 1000 Pflanzen 1,49 g,				
Stickstoff in Eiweißform in 1000 Pflanzen 1,25 g.				
II. Gruppe.				
Versuche ohne Kaliumion. Resultate nach 23 tägiger				
Entwicklung der Pflanzen.				
a) Ohne Zusatz von Kohlenhydraten.				
Gewicht von 1000 Pflanzen in der Trockensubstanz 14,876 g,				
Gesamtstickstoff				
Stickstoff in Form von Eiweiß $1,90^{\circ}/_{0}$				
Gesamtstickstoff in 1000 Pflanzen 0,43 g,				
Stickstoff in Eiweißform in 1000 Pflanzen 0,28 g.				

b) Bei Gegenwart von Glucose.					
Gewicht von 1000 Pflanzen in der Trockensubstanz . 43,04 g,					
Gesamtstickstoff					
Stickstoff in Form von Eiweiß					
Gesamtstickstoff in 1000 Pflanzen 1,29 g,					
Stickstoff in Eiweißform in 1000 Pflanzen 0,89 g.					
c) Bei Gegenwart von Fructose.					
Gewicht von 1000 Pflanzen in der Trockensubstanz . 46,63 g,					
Gesamtstickstoff					
Stickstoff in Eiweißform 2,180/0,					
Gesamtstickstoff in 1000 Pflanzen 1,40 g,					
Stickstoff in Eiweißform in 1000 Pflanzen 1,02 g.					
d) Bei Gegenwart von Saccharose.					
Gewicht von 1000 Pflanzen in der Trockensubstanz . 47,57 g,					
Gesamtstickstoff					
Stickstoff in Eiweißform 2,230/0,					
Gesamtstickstoff in 1000 Pflanzen 1,45 g,					
Stickstoff in Eiweißform in 1000 Pflanzen 1,06 g.					
B. Versuche in der Dunkelkammer.					
B. Versuche in der Dunkelkammer.					
B. Versuche in der Dunkelkammer. I. Gruppe.					
I. Gruppe. Nährlösung mit Kaliumion. Resultate nach 23 tägiger Entwicklung der Pflanzen. a) Ohne Zusatz von Kohlenhydraten.					
I. Gruppe. Nährlösung mit Kaliumion. Resultate nach 23 tägiger Entwicklung der Pflanzen. a) Ohne Zusatz von Kohlenhydraten. Gewicht von 1000 Pflanzen in der Trockensubstanz . 12,95 g,					
I. Gruppe. Nährlösung mit Kaliumion. Resultate nach 23 tägiger Entwicklung der Pflanzen. a) Ohne Zusatz von Kohlenhydraten. Gewicht von 1000 Pflanzen in der Trockensubstanz . 12,95 g, Gesamtstickstoff					
I. Gruppe. Nährlösung mit Kaliumion. Resultate nach 23 tägiger Entwicklung der Pflanzen. a) Ohne Zusatz von Kohlenhydraten. Gewicht von 1000 Pflanzen in der Trockensubstanz . 12,95 g, Gesamtstickstoff					
I. Gruppe. Nährlösung mit Kaliumion. Resultate nach 23 tägiger Entwicklung der Pflanzen. a) Ohne Zusatz von Kohlenhydraten. Gewicht von 1000 Pflanzen in der Trockensubstanz . 12,95 g, Gesamtstickstoff					
I. Gruppe. Nährlösung mit Kaliumion. Resultate nach 23 tägiger Entwicklung der Pflanzen. a) Ohne Zusatz von Kohlenhydraten. Gewicht von 1000 Pflanzen in der Trockensubstanz . 12,95 g, Gesamtstickstoff					
I. Gruppe. Nährlösung mit Kaliumion. Resultate nach 23 tägiger Entwicklung der Pflanzen. a) Ohne Zusatz von Kohlenhydraten. Gewicht von 1000 Pflanzen in der Trockensubstanz . 12,95 g, Gesamtstickstoff					
I. Gruppe. Nährlösung mit Kaliumion. Resultate nach 23 tägiger Entwicklung der Pflanzen. a) Ohne Zusatz von Kohlenhydraten. Gewicht von 1000 Pflanzen in der Trockensubstanz . 12,95 g, Gesamtstickstoff					
I. Gruppe. Nährlösung mit Kaliumion. Resultate nach 23 tägiger Entwicklung der Pflanzen. a) Ohne Zusatz von Kohlenhydraten. Gewicht von 1000 Pflanzen in der Trockensubstanz . 12,95 g, Gesamtstickstoff					
I. Gruppe. Nährlösung mit Kaliumion. Resultate nach 23 tägiger Entwicklung der Pflanzen. a) Ohne Zusatz von Kohlenhydraten. Gewicht von 1000 Pflanzen in der Trockensubstanz . 12,95 g, Gesamtstickstoff					
I. Gruppe. Nährlösung mit Kaliumion. Resultate nach 23 tägiger Entwicklung der Pflanzen. a) Ohne Zusatz von Kohlenhydraten. Gewicht von 1000 Pflanzen in der Trockensubstanz . 12,95 g, Gesamtstickstoff					

J. Stoklasa:

c) Bei Gegenwart von Fructose.					
Gewicht von 1000 Pflanzen in der Trockensubstanz . 35,94 g,					
Gesamtstickstoff $3,00^{0}/_{0}$,					
Stickstoff in Eiweißform $2,05^{0}/_{0}$,					
Gesamtstickstoff in 1000 Pflanzen 1,08 g,					
Stickstoff in Eiweißform in 1000 Pflanzen 0,74 g.					
d) Bei Gegenwart von Saccharose.					
Gewicht von 1000 Pflanzen in der Trockensubstanz . 36,04 g,					
Gesamtstickstoff					
Stickstoff in Eiweißform $2,00^{\circ}/_{o}$,					
Gesamtstickstoff in 1000 Pflanzen 1,06 g,					
Stickstoff in Eiweißform in 1000 Pflanzen 0,72 g.					
, 0					
II. Gruppe.					
Versuche ohne Kaliumion. Resultate nach 23 tägiger Entwicklung der Pflanzen.					
a) Ohne Zusatz von Kohlenhydraten.					
Gewicht von 1000 Pflanzen in der Trockensubstanz . 11.26 g.					
Gewicht von 1000 Pflanzen in der Trockensubstanz . 11,26 g,					
Gewicht von 1000 Pflanzen in der Trockensubstanz . 11,26 g, Gesamtstickstoff					
· •					
Gesamtstickstoff					
Gesamtstickstoff 2,54°/₀, Stickstoff in Eiweißform 1,03°/₀, Gesamtstickstoff in 1000 Pflanzen 0;29 g, Stickstoff in Eiweißform in 1000 Pflanzen 0,12 g. b) Bei Gegenwart von Glucose. Gewicht von 1000 Pflanzen in der Trockensubstanz 14,88 g, Gesamtstickstoff 2,63°/₀, Stickstoff in Eiweißform 1,18°/₀,					
Stickstoff in Eiweißform 1,03°/₀,					
Gesamtstickstoff 2,54 ⁰/₀, Stickstoff in Eiweißform 1,03 ⁰/₀, Gesamtstickstoff in 1000 Pflanzen 0;29 g, Stickstoff in Eiweißform in 1000 Pflanzen 0,12 g. b) Bei Gegenwart von Glucose. Gewicht von 1000 Pflanzen in der Trockensubstanz 14,88 g, Gesamtstickstoff 2,63 ⁰/₀, Stickstoff in Eiweißform 1,18 ⁰/₀, Gesamtstickstoff in 1000 Pflanzen 0,39 g, Stickstoff in Eiweißform in 1000 Pflanzen 0,18 g.					
Gesamtstickstoff					
Gesamtstickstoff					
Gesamtstickstoff					

d) Bei Gegenwart von Saccharose.							
Gewicht von 1000 Pflanzen in der Trockensubstanz . 15,08 g,							
Gesamtstickstoff			2,830/0,				
Stickstoff in Eiweißform			1,110/0,				
Gesamtstickstoff in 1000 Pflanzen							

Stickstoff in Eiweißform in 1000 Pflanzen

Ich habe die Keimlinge wiederum nach 12 tägiger Entwicklung einmal bei Gegenwart aller Pflanzennährstoffe, ein anderes Mal bei Abwesenheit von Kaliumion im Glashause bei Zutritt von kohlendioxydhaltiger Luft zur Entwicklung gebracht. Die Rübenpflanzen entwickelten sich bei voller Einwirkung der Sonnenenergie. Nach 23 Tagen betrug das Gewicht der Trockensubstanz von 1000 Pflanzen 133,85 g, worin sich 3,28°/₀ Gesamtstickstoff und 2,33°/₀ Stickstoff in Form von Eiweißstoffen befanden. Es waren somit in 1000 Pflanzen 3,11 g Stickstoff in Form von Eiweißstoffen enthalten.

Bei Abwesenheit von Kaliumion im Nährmedium belief sich das Gewicht der Trockensubstanz von 1000 Pflanzen auf 36,68 g, die Gesamtstickstoffmenge auf 3,34% und die Menge des Stickstoffs in Form von Eiweißstoffen auf 1,98%. Es befanden sich demgemäß in 1000 Pflanzen 0,73 g Stickstoff in Form von Eiweißstoffen.

Das sind gewiß gewaltige Differenzen im Vergleiche zu den Ergebnissen jener Versuche, wo der Pflanzenorganismus seine Kohlenstoffquelle in der Glucose, Fructose und Saccharose sowohl bei An- als auch bei Abwesenheit von Kaliumion gefunden hat.

Die autotrophe Ernährung der Zuckerrübenpflanze unterscheidet sich von der heterotrophen in ganz prägnanter Weise¹). Als sich die Rübenpflanzen unter Einwirkung von Licht, bei Anwesenheit von Kaliumion in kohlendioxydfreier Atmosphäre entwickelten, betrug ohne Zusatz von Kohlenhydraten das Gewicht der Trockensubstanz von 1000 Pflanzen 15,86 g. Die Menge des Stickstoffs in Form von Eiweißstoffen in 1000 Pflanzen bezifferte sich auf 0,31 g.

¹) Die erhaltenen Resultate bei den Versuchen, die ich nach der Methode von Zaleski und Tutorski, sowie nach der modifizierten Methode Petri ausführte, waren fast gleichlautend.

Bei Gegenwart von Glucose stieg das Gewicht der Trockensubstanz von 1000 Pflanzen auf 50,54 g und die Menge des Stickstoffs in Eiweißform in 1000 Pflanzen auf 1,15 g.

Bei Anwesenheit von Fructose belief sich das Gewicht der Trockensubstanz von 1000 Pflanzen auf 49,66 g, die Menge des Stickstoffs in Form von Eiweißstoffen in 1000 Pflanzen auf 1,15 g.

Bei Vorhandensein von Saccharose betrug das Gewicht der Trockensubstanz von 1000 Pflanzen 49,26 g, die Menge des Stickstoffs in Form von Eiweißstoffen in 1000 Pflanzen 1,25 g.

Wie aus diesen Zahlen erhellt, ist bei Gegenwart der beiden Monosaccharide, und zwar der Glucose und Fructose, sowie auch bei Anwesenheit des Disaccharids Saccharose die Eiweißsynthese tatsächlich vor sich gegangen, und zwar war sie bei Gegenwart von Glucose oder Fructose um je 0,84 g, bei Anwesenheit von Saccharose um 0,94 g größer als ohne Zusatz von Kohlenhydraten.

Andere Verhältnisse finden wir schon bei Abwesenheit von Kaliumion im Nährmedium.

Ohne Zusatz von Kohlenhydraten betrug das Gewicht der Trockensubstanz von 1000 Pflanzen 14,876 g, die Menge des Stickstoffs in Eiweißform in 1000 Pflanzen 0,28 g.

Bei Gegenwart von Glucose betrug das Gewicht der Trockensubstanz von 1000 Pflanzen 43,04 g, die Menge des Stickstoffs in Eiweißform in 1000 Pflanzen 0,89 g.

Bei Anwesenheit von Fructose belief sich das Trockensubstanzgewicht von 1000 Pflanzen auf 46,63 g, die Menge des Stickstoffs in Eiweißform in 1000 Pflanzen auf 1,02 g.

Bei Vorhandensein von Saccharose bezifferte sich das Gewicht der Trockensubstanz von 1000 Pflanzen auf 47,57 g, die Menge des Stickstoffs in Eiweißform in 1000 Pflanzen auf 1,06 g.

Die Eiweißsynthese ist demgemäß auch im Nährmedium ohne Kaliumion verlaufen und war bei Gegenwart von Glucose um 0,61 g, bei Anwesenheit von Fructose um 0,74 g und bei Vorhandensein von Saccharose um 0,78 g größer als ohne Zusatz von Kohlenhydraten. Durch diese Experimente wurde der deutliche Beweis geliefert, daß auch ohne Kaliumion im Nährmedium die Synthese der Eiweißstoffe stattfindet, so daß man wohl zur Annahme berechtigt ist, daß das Kaliumion auf den Aufbau der Eiweißstoffe von keinem wesentlichen Einfluß ist, wenn in der Zelle die plastischen Stoffe reichlich zu Gebote stehen.

Nun treten wir zu den Versuchen in der Dunkelkammer bei Gegenwart von Kaliumion im Nährmedium. Hier betrug das Gewicht der Trockensubstanz von 1000 Pflanzen ohne Zusatz von Kohlenhydraten 12,95 g, die Menge des Stickstoffs in Eiweißform von 1000 Pflanzen 0,14 g.

Bei Gegenwart von Glucose bezifferte sich das Trockensubstanzgewicht von 1000 Pflanzen auf 36,56 g, war also schon bedeutend kleiner als bei Zutritt von Licht. Die Stickstoffmenge in Eiweißform in 1000 Pflanzen belief sich auf 0,75 g. Bei Anwesenheit von Fructose betrug das Gewicht der Trockensubstanz von 1000 Pflanzen 35,94 g, die Menge des Stickstoffs in Eiweißform in 1000 Pflanzen 0,74 g.

Bei Vorhandensein von Saccharose belief sich das Trockensubstanzgewicht von 1000 Pflanzen auf 36,04 g, die Menge des Stickstoffs in Form von Eiweiß in 1000 Pflanzen auf 0,72 g.

Es stieg somit der Aufbau an Eiweißstoffen bei Gegenwart von Glucose um 0,61 g, bei Anwesenheit von Fructose um 0,60 g und bei Anwesenheit von Saccharose um 0,58 g im Vergleiche zu dort, wo keine Kohlenhydrate zugesetzt wurden.

Die Rübenpflanzen in der Dunkelkammer sind zwar in ihrer Entwicklung gegenüber jenen Pflanzen, die bei Lichtzutritt vegetierten, zurückgeblieben, aber die Eiweißsynthese ist dennoch vor sich gegangen, wenn auch nicht in so intensiver Weise wie bei Licht; immerhin finden wir auch in der Dunkelkammer bei Gegenwart von Glucose, Fructose oder Saccharose in dem Aufbau der Eiweißstoffe einen merklichen Zuwachs.

Die Ansichten einiger Forscher, daß das Licht keinen

direkten Einfluß auf die Eiweißbildung hat, sind entschieden unrichtig. Durch die Lichtenergie wird zweifellos der Prozeß der Eiweißbildung, namentlich der Kondensation unterstützt. Die Reduktion der Salpetersäure in salpetriger Säure bis zu Ammoniak geschieht durch den Wasserstoff, der in jeder autotrophen und heterotrophen Zelle durch die Atmungsenzyme neben Kohlendioxyd produziert wird. Natürlich geht bei Einwirkung der Sonnenstrahlen (bei den autotrophen Pflanzen) und durch die Wärme die Atmung viel intensiver vor sich als im Dunkeln. Die beobachtete Erscheinung, daß durch die Einwirkung des Lichtes in kohlensäurehaltiger Atmosphäre die Eiweißsynthese viel schneller erfolgt, läßt sich damit erklären, daß die in Entstehung begriffenen Kohlenhydrate jedenfalls den Aufbau der Eiweißstoffe viel mehr begünstigen als die künstlich zugeführten. Durch die Wirkung des Lichtes wird die nötige Energiequelle, die für den Gesamtstoffwechsel nötig ist, geliefert. Daß das Licht ein Agens ist, das in der pflanzlichen und tierischen Zelle den Auf-, Um- und Abbau durch Einwirkung der Katalysatoren in hohem Maße beeinflußt, zeigen namentlich die schönen neuen Untersuchungen Carl Neubergs.

Es ist ja bekannt, daß das Licht als Motor eingreift und das Triebwerk der chlorophyllhaltigen Zelle ist. Durch die Wirkung des Lichtes auf den lebenden Organismus wird eine Reihe von Photokatalysatoren, teils endogenen, teils exogenen Ursprungs hervorgerufen. In der Pflanzenzelle sind zahlreiche Substanzen, welche nach Art der Katalysatoren die Bildung und Metamorphose der Eiweißkörper bewirken, und zwar sind das, wie sich Fritz Schanz¹) ausdrückt, positive und negative Photokatalysatoren. In den autotrophen Pflanzen ist der positive Photokatalysator das Chlorophyll selbst. Hausmann hat

¹⁾ Fritz Schanz, Die Wirkung des Lichtes auf die lebenden Organismen, diese Zeitschr. 71, Heft 4 und 5, 1915. — Derselbe, Die Wirkung des Lichtes auf die lebende Zelle, Münch. med. Wochenschr. Nr. 19, 1915. — Derselbe, Die Wirkungen des Lichtes auf die lebende Substanz. Arch. f. d. ges. Physiol. 161. — Derselbe, Über die Beziehungen des Lebens zum Licht, Münch. med. Wochenschr. 1915.

in seiner geistreichen Arbeit "Die photodynamische Wirkung des Chlorophylls und ihre Beziehung zur photosynthetischen Assimilation der Pflanze" auf die große Wichtigkeit der photodynamischen Wirkungen des Chlorophylls in prägnanter Weise hingewiesen.

Bei den Versuchen in der Dunkelkammer ohne Kaliumion und ohne Zusatz von Kohlenhydraten betrug das Gewicht der Trockensubstanz von 1000 Pflanzen 11,26 g, die Menge des Stickstoffs in Eiweißform in 1000 Pflanzen 0,12 g.

Bei Gegenwart von Glucose belief sich das Gewicht der Trockensubstanz von 1000 Pflanzen auf 14,88 g, die Menge des Stickstoffs in Eiweißform in 1000 Pflanzen auf 0,18 g, so daß hier die Eiweißsynthese bei 1000 Pflanzen im Vergleiche zu dort, wo keine Kohlenhydrate zugesetzt wurden, um 0,06 g größer war.

Bei Anwesenheit von Fructose betrug das Trockensubstanzgewicht von 1000 Pflanzen 15,16 g, die Menge des Stickstoffs in Eiweißform in 1000 Pflanzen 0,16 g; letztere war hier bloß um 0,04 g größer als ohne Kohlenhydrate.

Bei Vorhandensein von Saccharose belief sich das Gewicht der Trockensubstanz von 1000 Pflanzen auf 15,08 g, die Menge des Stickstoffs in Form von Eiweiß in 1000 Pflanzen 0,17 g. Hier war die Eiweißsynthese gegenüber dort, wo keine Kohlenhydrate benutzt wurden, um 0,05 g gestiegen.

Auf den ersten Blick erkennt man nun, daß die Rübenpflanzen in der Dunkelkammer bei Abwesenheit von Kaliumion selbst bei Gegenwart von Glucose, Fructose oder Saccharose im Vergleiche zu dort, wo im Nährmedium Kalium vorhanden war, in ihrer Entwicklung zurückblieben.

Diese Differenzen betragen:

Bei Gegenwart von Glucose . . . 21,68 g,

n n n Fructose . . . 20,78 g,

n Saccharose . . . 20,96 g.

Diese Befunde liefern den eklatanten Beweis, daß die autotrophe Ernährung der Rübenpflanzen ohne Kaliumion in der Dunkelkammer eine so starke Depression erleidet, daß sich die Pflanzen fast gar nicht entwickeln konnten und natürlich die Eiweißsynthese beinahe unverändert blieb.

Meine zahlreichen Untersuchungen lieferten das Resultat, daß in kohlensäurefreier Atmosphäre unter Einwirkung der Sonnenenergie bei Gegenwart von Kohlenstoffquellen in Form von Glucose, Fructose oder Saccharose bei An- und Abwesenheit des Kaliumions die Bildung des Eiweißmoleküls erfolgt. Wenn ein großer Vorrat von plastischen organischen Verbindungen in der Pflanzenzelle existiert, so kann der Aufbau der Eiweißstoffe auch ohne Kaliumion unter Einwirkung der Sonnenenergie vor sich gehen. Aber auch ohne Anwesenheit von Licht vollzieht sich der Vorgang bei dem Aufbau des Eiweißmoleküls in der Pflanzenzelle, wenn nur genügend geeignete Kohlenstoffquellen, Kaliumion und alle anorganischen Nährstoffe in der Zelle vertreten sind. Ohne Kaliumion, bei Abwesenheit von Licht kann der Prozeß der Synthese der Eiweißstoffe nicht verlaufen, selbst wenn in der Zelle genügende Mengen abbaufähiger Kohlenhvdrate vorhanden sind.

Bei vollem Ausschluß des Lichtes kommt erst das Kaliumion als Energiequelle recht zur Geltung und bewirkt den nötigen Abbau der Kohlenhydrate durch die Atmungsenzyme. Der Aufbau neuer lebender Moleküle und die Dissimilation sind Prozesse, die in irgendwelchem Zusammenhange stehen. Daß bei den Dissimilationsprozessen, also bei der Mechanik der physiologischen Verbrennung, dem Kaliumion eine wichtige Aufgabe zugewiesen ist, wurde durch meine Versuche¹) ganz deutlich dokumentiert. Die Ergebnisse meiner Arbeit zeigen ganz deutlich, daß das Licht und das Kaliumion in der Pflanzenzelle katalytische Reaktionen und photodynamische Wirkungen hervorrufen.

¹⁾ Julius Stoklasa, Über die Zuckerabbau fördernde Wirkung des Kaliums. Ein Beitrag zur Kenntnis der alimentären Glucosurie. Zeitschr. f. physiol. Chemie, 62, Heft 1, 1909.

Untersuchungen über den Nährwert des Strohstoffs.

Von

R. von der Heide, M. Steuber und N. Zuntz.

(Aus dem tierphysiolog. Institut der kgl. Landw. Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 28. Dezember 1915.)

I. Verdauungsbilanz beim Pferde.

Kellner hat nachgewiesen, daß der sogenannte "Strohstoff", wie er zum Zwecke der Papierfabrikation durch Kochen von Stroh mit 2- bis 40/0 iger Natronlauge und Wegwaschen des gelösten gewonnen wird, beim Wiederkäuer fast vollkommen verdaulich ist. Jüngst hat Fingerling das gleiche beim Schwein gefunden. Diese Untersuchungen gaben den Anstoß zu den Arbeiten von Dr. Öxmann, der aus Strohstoff, den er unter Zugabe von Kartoffelflocken oder von Melasse trocknete, ein handliches und von allen Tieren gern aufgenommenes Trockenfutter herstellte. Wir haben den Nährwert dieses Futters an einem Pferde und an einigen Schweinen untersucht. Es sollte zunächst beim Pferde festgestellt werden, wie große Mengen dieses Futters ohne Gesundheitsstörungen aufgenommen werden können. In den ersten Tagen wurde ein Material verwendet, das aus 80°/0 Strohstoff, 15°/0 Kartoffelflocken und 5% Melasse bestand. Später ein solches aus 80% Strohstoff und 20°/0 Melasse. Beide Futtermischungen wurden gern vom Tier aufgenommen. Das Tier wog zu Beginn der Versuche am 24. VIII. 598,5 kg. Es nahm an diesem Tage auf: 5,5 kg Strohstoff, 3,5 kg aus jungem Gras hergestelltes Heu.

Am 25.: 6,0 kg Strohstoff, 4,5 kg Heu und 1,5 kg Hafer,

n 26.: 6,0 n n 3,0 n n n 1,5 n ,

n 27.: 6,5 n n 3,0 n , n 1,5 n n

11

Biochemische Zeitschrift Band 78.

Am 28. wurde die Ration des Strohstoffs auf 8 kg erhöht und daneben nur 1,5 kg Hafer, 0,25 kg Kleber, 4,0 kg Kartoffelflocken gegeben.

Am 29. verweigerte das Tier die Aufnahme der großen Menge Strohstoff; es wurden nur gefressen 2 kg Strohstoff, 1 kg Kartoffelflocken, 1,5 kg Hafer, 0,25 kg Kleber.

Am 30. VIII. wurden verfüttert: 6 kg Strohstoff, 2 kg Kartoffelflocken, 0,25 kg Kleber, 0,4 kg Zucker. — Das Tier entleerte sehr viel Gase und wenig ungeformten breigen Kot.

Am 31. VIII. wurde von früh morgens bis nachmittags 6 Uhr kein Kot entleert und in dieser Zeit auch nichts gefressen.

Am 1. IX.: 4 kg Strohstoff, 2 kg Kartoffelflocken, 2 kg Hafer, 0,25 kg Kleber. Von diesem Futter war am 2. IX. noch ein Rest von ca. 1,5 kg Gewicht vorhanden. Aufgenommen wurden am 2. IX.: 3 kg Strohstoff, 1,5 kg Kartoffelflocken, 2 kg Hafer, 1 kg Melasse, 250 g Kleber, 2 kg Heu, das in den letzten Tagen nicht verfüttert worden war.

Am 3. IX.: 4 kg Strohstoff, 1 kg Kartoffelflocken, 2 kg Hafer, 2 kg Heu, 0,25 kg Kleber. An diesem Tage war der Kot breiig, mit viel Strohfasern und einzelnen Haferkörnern durchmischt, stark nach Fettsäuren riechend.

- 4. IX.: 4 kg Strohstoff, 1,5 kg Hafer, 2 kg Heu, 0,25 kg Kleber.
 - 5. IX.: dasselbe Futter.
- 6. IX.: 4 kg Strohstoff, 2 kg Hafer, 2 kg Heu, 0,25 kg Kleber, 1 kg Zucker. Dieses Futter wurde von jetzt ab gleichmäßig bis zum 22. IX. beibehalten.

Bemerkenswert ist, daß bei Verabreichung großer Mengen von Strohstoff die Kotmenge äußerst gering war, das Tier aber einen ziemlich aufgetriebenen Leib zeigte und sehr große Gasmengen, nach Fettsäuren riechend, entleerte. Es kamen in dieser Periode auffallende, wohl im wesentlichen durch wechselnde Zurückhaltung von Wasser zu erklärende Gewichtsschwankungen vor. Das ergibt sich aus folgender Gewichtstabelle:

Tabelle I.

25. VIII.	583,5 kg	28. VIII.	587,6 kg
2 6.	583,0 n	29.	590,0 n
27.	577,0 <i>n</i>	3 0.	573,0 »

Tabelle I (Fortsetzung).

31. VIII.	563,7 kg	12. IX.	573,5 kg
1. IX.	582,4 n	13.	
2.	581,0 n	14.	574,2 »
3.	576,9 »	15.	574,2 »
4.	584,2 "	16.	572,0 »
5.	582,0 "	17.	573,0 »
6.	572,2 »	18.	570,2 »
7.	577,7 "	19.	569,6 n
8.	578,7 »	20.	569,0 »
9.	576,6 "	21.	567,1 "
10.	573,0 "	22.	571,3 "
11.	578,5 »		•

Man sieht aus der Gewichtstabelle, daß seit der am 5. IX. einsetzenden gleichmäßigen Fütterung auch das Körpergewicht nur geringe Schwankungen erfuhr. In den letzten Tagen dieser Fütterungsperiode vom 17. bis zum 22. IX. wurden Kot und Harn quantitativ gesammelt.

Da sich im Vorversuch herausgestellt hatte, daß das Tier Harntrichter nur schlecht vertrug und dadurch in seinem Niederlegen sowie in seiner Ruhe beeinträchtigt wurde, erfolgte die Sammlung des Harnes in der Weise, wie es bei den bekannten Versuchen von Grandeau und seinen Mitarbeitern geschehen ist, einfach so, daß der auf den zementierten, mit Gefälle, nach einem Abfallrohr versehenen Stallboden entleerte Harn nach

Tabelle II.

	Wasser	Trocken- substanz	Asche	Organ. Substanz	Roh- protein	Rohfett	Rohfaser	N-freies Extr	Calorien
Strohstoff	9,68	90,32	4,58	85,74	3,094	0,41	51,39	30,85	3595,0
Heu	8,99	91,01	6,88	84,13	9,188	5,58	20,48	48,88	3971,2
Kleber	8,76	91,24	0,71	90,53	80,034	0,97		9,53	5342,1
Hafer	9,11	80,89	3,32	77,57	11,604	4,17	9,75	52,05	4141,8
Pferdekot 17.bis 22. IX.	5,74	94,26	12,73	81,53	14,112	5,14	15,14	47,14	4305,8
Pferdekot 1. bis 6. X.	6,42	93,58	8,89	84,69	9,425	4,05	2 3,9 8	47,24	4366,2
Pferdeharn in 100 com	_	_	2,1656			_	_	_	10104,5
17.bis 22.IX.			_,_,						
Pferdeharn in 100 com 1. bis 6. X.	_	_	2,2828	_	_		_	_	16795,0

jeder Entleerung in die Sammelflasche nachgespült wurde, während der Kot unmittelbar nach der Entleerung von der Stallwache in das Sammelgefäß übergeführt wurde.

Die analytischen Daten dieser Periode und der nachfolgenden, in der der Strohstoff durch Heu ersetzt wurde, gibt Tabelle II.

Der an den einzelnen Versuchstagen gesammelte Harn, dem stets schon etwas Spülwasser beigemengt war, wurde auf rundes Volumen aufgefüllt und in je 100 ccm mehrere Stickstoffbestimmungen ausgeführt. Aliquote Teile des Tagesharns jeder Versuchsreihe wurden zu einer Mischprobe vereinigt, in der der Stickstoff zur Kontrolle nochmals und ferner die Verbrennungswärme und Asche bestimmt wurde. Wir geben in den folgenden Tabellen außer den auf den Harn bezüglichen Daten auch das Gewicht des frischen und getrockneten Tageskotes an.

Tabelle III.
Strohstoffütterung.

			Kot				
5 .	Tages-	aufge-	Stick	cstoff	Tagesportion		
Datum	portion	füllt auf	in 100 ccm	im Tages- harn	frisch	luft- trocken	
	g	Liter	mg_	g	kg	g	
17. IX.	5725	8	775	62,00	14.225	3000	
18.	9085	10	468	46,80	6,330	1650	
19.	9615	10	491	49,10	9,480	2420	
20.	4785	8	483	38,64	8,170	1910	
21.	5 655	8	478	38,24	7,130	16 60	
22	6475	8	903	72,24	9,136	2 285	
Summa:	41340	52		307,02	54,471	12925	
Tagesdurch- schnitt:	6880	8,667		51,17	9,0785	2155	

Die Stickstoffbestimmung im Mischharn ergab, berechnet auf die ganze Menge, 306,74 g = 51,12 g pro Tag, also eine vorzügliche Übereinstimmung. Wir rechnen mit dem Mittel 51,15 g N^1). Die Zahl 51,15 g bedarf noch einer kleinen Korrektur, weil die Harnsammlung nicht genau 6×24 Stunden

¹⁾ Die Harnspülwässer wurden in dieser Periode mit dem Tagesharn vereinigt, während in der Heuperiode eine besondere Aufsammlung von Spülwasser erfolgte.

umfaßt. Sie begann am 17.IX. 10^h 15' und wurde am 23.IX. 10^h 0' abgeschlossen. Die Tagesportion entspricht also nur 1437,5 Minuten, und auf 24 Stunden entfallen 51,31 g N = 320,69 g umgesetztes Rohprotein.

Die Verbrennungswärme des Harns wurde in 10 ccm zu 1010,45 cal bestimmt, Die Gesamtmenge von 52 l ist für die an 6 Tagen fehlenden 15 Minuten um $^{1}/_{575}$ auf 52,09 l zu erhöhen. Wir haben also pro Tag 8682 ccm Harn zu rechnen, entsprechend 877,27 Cal.

Beim Trocknen des Kotes im Vakuumtrockenschrank wurden von $^{1}/_{10}$ der ganzen Masse 6 l Kondenswasser in Schwefelsäure aufgefangen, worin 1,332 g N gefunden wurden. Es entwichen also aus dem Gesamtkot der 6 Tage 13,32 g N oder 2,22 g N pro die == 13,88 g Protein. — Da ferner der letzte gesammelte Kot am 23. IX. um 55 Minuten früher erschien als der letzte zu Beginn des Versuchs entfernte, ist das Gewicht des in 24 Stunden gelieferten Kotes um $^{9}/_{1481}$ zu vergrößern, d. h. wir müssen statt mit 2155 g mit 2168,6 g lufttrocknen Kotes rechnen.

Aus vorstehenden Daten berechnet sich die Bilanz der Nährstoffe für die Periode mit Strohstoff vom 17. bis 22. IX. wie folgt:

	Trocken- substanz	Asche	Organ. Substanz	Roh- protein	Rohfett	Rohfaser	N-freies Extr.	Calorien
1,875 kg Heu . 250 g Kleber .	3612,8 1706,4 228,1 1617,8 995,0	129,0 1,8	1551,4	172,27 200,08	16,40 104,62 2,42 83,40	_		14380,0 7446,0 1335,5 8283,6 3933,0
Summa:	8160,1	385,4	7774,7	728,19	206,84	2627,0	4205,2	35878,1
2168,6 g Kot. Verdaut 8682 com Harn Angesetzt	6116,0		6006,6	319,91 ¹) 408,28 320,69 87,59 g N =	95,37 —	2298,7 —		9337,6 26040,5 877,3 25163,2
Verdaut in %/0					46,11		76,2	73,61

^{1) 306,03} g Protein im Trockenkot + 13,88 g entsprechend den beim Trockenen verflüchteten 2,22 g N. — Die 13,88 g sind von den N-freien Extraktstoffen des Kotes abzuziehen; statt 1022,3 ist deren Gewicht nur 1008,42.

Es sollte nun in einer 2. Versuchsreihe der Strohstoff durch Heu ersetzt werden. Da das Heu ausreichend Eiweißsubstanzen enthält, wurde der Kleber aus der Ration weggelassen, dagegen wurde die Hafermenge von 2 kg und das 1 kg Zucker beibehalten. Das Tier erhielt am 23. IX. 8,95 kg Heu, 2 kg Hafer, 1 kg Zucker.

Am 24. IX. 8 kg Heu, dieselbe Menge Hafer und Zucker. Vom 25. IX. ab neben derselben Menge Hafer täglich 9 kg Heu, nur am 29. wurden irrtümlich statt 9 kg 10 kg Heu verfüttert.

Am 1. X. begann, nachdem um 9h der Kot, um 9h 45' der Harn entleert war, die quantitative Sammlung der Ausscheidungen. Das Gewicht des Tieres bei dieser Fütterung während der Sammlung von Harn und Kot gibt Tabelle V. Zur Ergänzung dienen folgende Zahlen:

1. X.	574,0 kg	9. X.	580,0 kg
2.	586,6 n	10.	580,2 n
8.	595,0 n	11.	580,2 n

Im Durchschnitt des 2. bis 4. Tages der Heufütterung war das Gewicht des Tieres 578,7 kg, im Durchschnitt der letzten Tage 580,1 kg. Es fand also bei dieser Fütterung eine geringe Zunahme des Gewichts statt, so daß man auf Grund der Gewichtsverhältnisse schließen könnte, daß 7 kg Heu etwas mehr leisten als 4 kg Strohstoff. Die Grundlagen der Stoffwechselberechnung gibt Tabelle V.

Tabelle V. Heuperiode 1. bis 6. X. 1915.

		I.	Iarn		K		
Та		portion	Stic	kstoff	Tages	Tier-	
Datum	g	aufge- füllt auf Liter	in 100 ccm mg	im Tages- harn g	frisch g	luft- trocken g	gewicht kg
1. X.	4635	6	852	51,12	15770	4270	574,0
2. 3.	7 3 7 5 7 9 3 5	8 8 8	808 797	64,64 63,76	17860 19840	4750 5420	586,6 587,0
4 . 5.	8830	9	868 668	69,44 60,12	17 560 18 760	4770 5040	588,7 592,3
6	14390	15	517	77,55	20400	5550	592,7
Summa:	l	54	_	386,63	110190	29800	l
Tagesdurch- schnitt:	8550	9	_	64,438	18365	4967	

Der Mischharn ergab in 100 ccm 0,720 mg N₂, also im ganzen 388,8 g N₂. Das Mittel der Tagesbestimmungen wurde als die zuverlässigere Zahl verwendet.

Es wurden in den getrennt gesammelten Harnspülwässern der 6 Tage 3,388 g N₂ gefunden == 0,565 g pro Tag.

Da wir 386.63 g N_2 in 54 l haben, entsprechen den 3,388 g $N_2 = 0,4732$ l Mischharn.

Für den Tag haben wir also 9,079 l Mischharn.

Da aber die Harnsammlung am 1. VI. vorm. 9h 45' begann, der letzte Harn am 7. X. vorm. 10h 12' entleert wurde, ist die Periode 27 Minuten länger als 6 Tage oder der Tag um 4,5 Minuten zu lang. Auf 24 Stunden entfallen 9050,7 ccm Harn. In dieser Menge haben wir 64,80 g N und 1520,1 Cal.

Die Kotsammlung umfaßt die Zeit vom 1. X. vorm. 9^h bis 7. X. vorm. 9^h 45', also 45 Minuten mehr als 6 Tage, so daß die durchschnittliche Tagesmenge im Verhältnis $\frac{1440}{1447,5}$ auf 4941 g

Trockenkot zu berechnen ist. Im Kotstandwasser wurden 0,613 g N gefunden, entsprechend 3,831 g Rohprotein. Bei einem Gehalt des Kotes von $14,112^{0}/_{0}$ Rohprotein entspricht dies 27,15 g lufttrockenem Kot oder 4,525 g pro Tag. Wir haben also im ganzen mit 4945,5 g lufttrockenem Tageskot zu rechnen. Darin sind $9,425^{0}/_{0}$ Rohprotein, also im ganzen 466,11 g Rohprotein. Hierzu kommt das Äquivalent der beim Trocknen verflüchtigten 12,60 g N = 78,75 g Rohprotein, entsprechend 13,125 g pro Tag. Der Tageskot enthielt also im ganzen 479,24 g Protein.

Das N-freie Extrakt des Kotes beträgt $47,24^{\,0}/_0$ oder in den 4945,5 g = 2336,25 g. Hiervon sind die 13,13 g abzuziehen, die dem Rohprotein wegen des verflüchtigten Ammoniaks zuzuzählen waren. Es bleiben 2323,12 g N-freies Extrakt.

Aus diesen Grundlagen ergibt sich die Bilanz in Tabelle VI. Der Vergleich von Tabelle IV und VI zeigt, daß das Tier in der Strohstoffperiode 7774,7 g organische Substanz, deren Brennwert 35378 Cal betrug, aufgenommen hatte, in der Heuperiode dagegen 9637,8 g organische Substanz mit einem Brennwert von 45714 Cal. Dieser enorme Unterschied wurde aber durch die sehr viel bessere Verdaulichkeit des Strohstoffs mehr als ausgeglichen. Verdaut wurden in der Strohstoffperiode

Tabelle VI.							
Heuperiode	1.	bis	6. X.	1915.			

	Trooken- substanz	Авсре	Organ. Substanz	Roh- protein	Rohfett	Rohfaser	N-freies Extr.	Calorien
8435 g Heu 2000 g Hafer . 1000 g Zucker .	76 76,7 16 17,8 9 95,0	66,4	7096,4 1551,4 990,0	232,08		1727,5 195,0 —	1040,9	33497,5 8283,6 3933,0
Summa: 4945,5 g Kot . Verdaut 9050,7 com Harn Angesetzt		439,7 212,0	4188,3 5449,5		200,29	1185,9	2323,1 3830,8	21593,0

Im Harn auf 1 g N = 23,46 Cal.

Verdaut in % . | 55,02 32,53 |56,54 | 52,41 63,85 38,31 62,25 | 52,76

6006,6 g organische Substanz und 26040,5 Cal, in der Heuperiode nur 5449,5 g organische Substanz und 24121 Cal. Dieses Übergewicht der Strohstoffperiode wächst noch durch die geringeren Verluste im Harn, die hier 877 Cal ausmachen, gegen 1520 Cal in der Heuperiode. Dadurch steigt das Übergewicht der zur Verfügung stehenden Calorien: 25163 bei der Strohstoffütterung, gegen 22601 bei Heu.

Wenn wir das Nährstoffverhältnis in der üblichen Weise berechnen (Fett>2,4), ergibt sich dasselbe in der Strohstoffperiode zu

1:10,08 im Futter,

1:14,04 " Verdauten,

dabei wurden noch 87,6 g Protein angesetzt.

In der Heuperiode

1: 9,34 im Futter,

1:10,26 " Verdauten,

wobei 135,2 g Protein angesetzt wurden.

Auf alle Fälle darf der Proteingehalt der Nahrung um die überschüssige angesetzte Eiweißmenge, also im Strohstoffversuch, um 87,6 g vermindert werden. Dann würde das Nährstoffverhältnis ohne Nachteil für den Eiweißbestand des Tieres auf 1:16,8 erweitert werden.

II. Der respiratorische Stoffwechsel.

Respirationsversuche sollten darüber Auskunft geben, wie sich der Energieverbrauch infolge der verschieden großen Verdauungsarbeit bei den beiden Fütterungsarten gestalte. Nach Beendigung der Sammlung von Harn und Kot am 7. X. wurde die Heufütterung zunächst unverändert beibehalten, am 9. X. fand dann ein Respirationsversuch statt. Es sollte der Gaswechsel während der Zeit der hauptsächlichsten Nahrungsaufnahme studiert werden, um ihn mit denselben Verhältnissen bei teilweisem Ersatz des Heues durch den Strohstoff zu vergleichen. Nach früheren Erfahrungen durften wir annehmen, daß das Tier 8 Stunden auch ohne Lufterneuerung in der großen Kammer des Respirationsapparates ohne Störung atmen könne. Der Versuch wurde deshalb in der Weise durchgeführt, daß das Pferd morgens vor 9 Uhr nüchtern in den Respirationskasten gebracht wurde. Die Luft des Kastens wurde durch zwei im Innern aufgestellte Ventilatoren intensiv durchgemischt, außerdem bewirkte der für die Regnault-Reiset-Versuche bestimmte Ventilator eine rasche Zirkulation der Luft durch den Absorptionsturm für Kohlensäure und Wasserdampf. stand die Tür offen, so daß auch noch reichlich Frischluft eintreten konnte. Im Absorptionsturm wurde durch die Kältemaschine eine Kühlung bis +2,7° bewirkt und dadurch die Luft stark ausgetrocknet. Die trockene Luft kehrte, im Zirkulationsofen erwärmt, wieder in den Apparat zurück. Um 10h 39' wurde die Kältemaschine stillgestellt, um 10h 42' auch die Heizung des Ofens abgestellt. Nunmehr wurde dem Tier das Tagesfutter von 9 kg Heu, 2 kg Hafer und 1 kg Zucker vorgelegt und gleich darauf der Apparat hermetisch verschlossen, während eine Luftzirkulation durch die Umführung des Absorptionsturmes stattfand. Nachdem diese lang genug gedauert hatte, um einen vollkommenen Ausgleich der Temperaturen zu sichern, wurden zwischen 11h 15' und 11h 16' an zwei verschiedenen Stellen der Zirkulation Proben zur Analyse entnommen. 5 Minuten nachher wurde die Zirkulation ganz stillgestellt, nur die Luftdurchmischung durch die inneren Ventilatoren dauerte an. Am Abend 6h 55' wurde die Luftzirkulation durch das äußere Gebläse wieder in Gang gebracht und dann von

7^h 16' bis 7^h 18' wiederum an den beiden Stellen Gas zur Analyse entnommen. Während des Versuches wurde dauernd am Wassermanometer der Druck im Innern des Kastens beobachtet und durch Aussaugen mit Hilfe des Kubizierapparates dafür gesorgt, daß stets im Innern des Kastens der Druck 1 bis 2 mm unter dem atmosphärischen lag. So konnte wohl etwas Außenluft durch etwaige Undichtigkeiten in den Apparat eindringen, nicht aber Innenluft auf unkontrollierte Weise verloren gehen. Es wurden im ganzen 6 Portionen Luft während der 8 Stunden aus dem Apparat ausgesaugt. Das ausgesaugte Volumen betrug 3223,5 l, reduziert 2909,3 l.

Von 10^h 53' bis 1^h 45', also 2 Stunden 53 Minuten lang, fraß das Tier fast ständig. Nachher in Pausen noch 65 Minuten lang. Nach Beendigung des Versuchs war noch ein Futterrest von 5,05 kg vorhanden, das Tier hatte also 6,95 kg der Futtermischung gefressen. Wasser wurde nur 0,5 l aufgenommen.

Die wesentlichsten analytischen Daten waren folgende: zu Beginn des Versuchs Gasvolumen: 84110 l, Luftdruck auf 0° reduziert: 756,66 mm, Temperatur des trockenen Thermometers 20,45°, des feuchten 15,71°, also Dampfspannung 10,30 mm. Hieraus berechnet sich ein Gasdruck im Innern des Apparates von 746,4 mm. Die mittlere Temperatur des Gases war 20,39°, hieraus auf 0° und 760 mm reduziertes Volumen 76855,0 l. Am Schluß des Versuchs war der Luftdruck 757,12 mm (0°), die Temperatur des trockenen Thermometers 21,71°, die des feuchten 20,71°, die Dampfspannung 19,30 mm, der Unterdruck im Kasten 0,11 mm, demnach Gasdruck 737,71 mm, mittlere Temperatur des Gases 21,63°. Menge der Kastenluft wie anfangs 84110 l, hieraus reduziertes Volumen = 75640 l.

Die Zusammensetzung der Kastenluft war:

Mittel aus je 8 Analysen

zu Beginn 0,439°/₀ CO₂ 20,464°/₀ O 79,090°/₀ N 0,006 °/₀ CH₄ am Schluß 2,110°/₀ CO₂ 18,64 °/₀ O 79,195°/₀ N 0,0525°/₀ CH₄ 0,002°/₀ H₃

Hieraus ergibt sich als Gesamtmenge der einzelnen Gase:

	CO ₂	$O_{\mathbf{g}}$	N_{g}	CH.	\mathbf{H}_{2}
Zu Anfang	337,4 l	15 727,6 l	60 78 4,6 1	4,61 l	0,00 1
Am Ende	1596,0 l	14099,3 l	59 903,1 l	39,71 l	1,51 1
Differenz	+ 1258,6 l	— 1628,3 l	— 881,5 l -	- 35,10 l -	+ 1,51 l
Mit dem Kubizier-					
apparat ausgesaugt:	34,9 l	571,2 l	2302,4 1	0,78 1	0,04 1
	+ 1293,5 l	— 1057,1 l	1420.9 l	35.88 1	1.55 l

Mit 1420,9 l N ein-					
gedrungen	1,8 l	375,2 1	1420,9 l		
Geatm. in 481,5 Min.	1291,7 l	1432,3 l		35,88 1	1,55 l
n n 1 n	2682,6 ccm	2974,7 ccm	_	74,53 ccm	3,22 ccm
Geatmet je kg und					
Min. (580 kg)	4,625 ccm	5,129 ccm	_	0,128 ccm	_
	Resp.	Quotient 0,9	02.		

Wie gesagt, wurden, um dauernd den Druck im Kasten um 1 bis 2 mm Wasserdruck unter dem atmosphärischen zu halten, 6 Portionen Luft aus dem Kasten ausgesaugt. Die Zusammensetzung der ausgesaugten Luft wurde unter der Annahme gleichmäßig fortschreitender Änderung der Kastenluft für die mittlere Zeit jeder Aussaugung berechnet. Aus der Anfangs- und Endanalyse ergibt sich folgende Änderung pro Stunde: +0,209°/₀ CO₂, -0,227°/₀ O₂, +0,014°/₀ N₂, +0,0057°/₀ CH₄. Hieraus berechnet sich für die ausgesaugte Luft:

Zeit	Volumen Oou. 760mm			Proz. Zusammensetzung			Absolute Menge Liter		
	Liter	CO	Og	N ₂	CH ₄	CO	Og	N ₂	CH ₄
11h 45' 12h 42' 2h 10' 4h 20' 6h 00' 7h 00'	540, 0 539,0 538,5 563,1 545,4 183,3	0,752 1,065 1,483 1,850	20,351 20,124 19,784 19,330 18,924 18,697	79,111 79,132 79,160 79,182	0,015 0,023 0,035 0,045	4,05 5,74 8,35 10,09	109,90 108,47 106,54 108,85 103,21 34,27	426,41 426,13 445,75 431,86	0,079 0,125 0,195 0,245
Im ganzen	2909,3					34,93	571,24	2302,44	0,786

Der Anteil der Kauarbeit an dem vorstehenden Ergebnis des Respirationsversuches läßt sich auf Grund der Versuche von Zuntz und Hagemann¹) wie folgt berechnen. Das Tier hat 6,95 kg Futter gefressen, wovon 5,21 kg Heu, 1,16 kg Hafer, 0,58 kg Zucker waren. Das Fressen dauerte 220 Minuten, wovon 22 auf die Zeit vor der Anfangsprobe fallen. Demgemäß haben wir zur Berechnung des Sauerstoffverbrauchs für das Fressen folgende Zahlen:

4,70 kg Heu à 34,5 l
$$O_9 = 162,1$$
 l O_2
1,05 " Hafer à 6,8 l $O_9 = 7,1$ l O_2
Die Freßarbeit verbraucht 169,2 l O_2

¹⁾ Zuntz und Hagemann (mit Lehmann und Frentzel), Untersuchung über den Stoffwechsel des Pferdes bei Ruhe und Arbeit. Landw. Jahrb. XXVII. Suppl. III, S. 273, Tab. XXXV.

Da das Fressen 198 Minuten dauerte, macht das pro Freßminute einen Mehrverbrauch von 854 ccm Sauerstoff.

Es bleiben 1263,1 l für die übrigen Leistungen, bei denen nur wenige Minuten Unruhe des sonst sehr still stehenden Tieres in Betracht kommen. Pro Kilogramm und Minute sind also 4,523 ccm O₂ verbraucht. In den früheren Versuchen mit Hagemann war der Verbrauch in der 3. Stunde nach einer ähnlichen Nahrungsaufnahme = 3,98 ccm pro Kilogramm und Minute.

Nach Beendigung dieses Versuchs wurde die Heumenge reduziert und dafür Öxmannscher Strohstoff mit Melasse zugelegt. Am 15. Oktober fraß das Tier wieder wie in der ersten Stoffwechselperiode:

4 kg Öxmann-Futter, 2 kg Heu, 2 kg Hafer, 1 kg Zucker, 0,25 kg Kleber. — Am 19. Oktober wurde das Tier vormittags 9h mit 560 kg Gewicht (geringere Bauchfüllung als bei Heufütterung) in den Respirationskasten gebracht. Der Versuch, genau wie der vorige durchgeführt, dauerte von $11^h 45^1/_9$ bis $7^h 45^1/_2$ = 8 Stunden. Dem Tier wurde wieder das ganze Tagesfutter = 9,25 kg vorgelegt, es fraß davon in 181 Minuten 7,15 kg, also absolut und relativ mehr als beim Heuversuch. Das Tier war auch in diesem Versuch nicht besonders unruhig, sein Verhalten sichtlich dem im Heuversuch entsprechend. Der Gaswechsel berechnet sich wie im vorigen Versuche:

	CO2	$O_{\mathbf{g}}$	$N_{\mathbf{z}}$	CH ₄	H_3
Anfangsgas:	0,2020/0	20,546 0/0	$79,245^{\circ}/_{0}$	0,00680/0	0,000/0
Endgas:	1,385°/0	19,265°/0	$79,310^{\circ}/_{0}$	$0.0379^{\circ}/_{\circ}$	0,000/0

Mit dem auf 0°, 760 mm und Trockenheit reduzierten Anfangsvolumen 78148,3 l und dem entsprechenden Endvolumen 77266,7 l ergibt sich hieraus:

	COg	$O_{\mathbf{s}}$	N_{g}	$\mathbf{CH_4}$
Zu Anfang	157,86 l	16056,35 l	61 928,78 l	5,314 l
Zu Ende	1070,14 l	14885,43 l	61 280, 22 l	30,675 l
Differenz +	- 912,28 l	— 1170,92 l	648,56 l	+ 25,361 l
Mittels Kubizierappa-				
rat ausgesaugt	14,67 l	330,71 l	1322,79 I	0,388 1
	926,95 1	840,21 l	674,23 1	25,749 1

Mit Kubizierapparat										
eingefüllt	0,12 l	24,77 l	93,81 l							
	926,83 1	864,98 1	580,42 1	25,749 1						
Mit 580,42 l N einge-			-							
drungen	0,73 1	153,28 l	580,42 l							
Gaswechsel des Tieres	926,10 l	1018,26 l	_	25,749 l						
" in 1 Min.	1929,40 ccm	2121,40 ccm		53,640 ccm						
Resp. Quotient 0,909.										
Gaswechsel je 1 kg	-	•								
und 1 Min	3,445 ccm	3,788 ccm		0,0957 ccm						

Nach Beendigung dieses Versuchs blieb das Tier im Respirationskasten. Derselbe wurde gründlich ventiliert und dann noch mit Hilfe gekühlter Kalilauge im Absorptionsturme Wasserdampf und Kohlensäure entfernt. 8^h 51' wurde der Rest des Tagesfutters = 2095 g vorgelegt, das Tier begann sofort zu fressen, um 9^h $4^1/_2$ ' wurden die Gasproben zur Analyse entnommen und die nötigen Ablesungen ausgeführt, um 12^h $4^1/_2$ ' Beendigung des Versuchs. Das Tier fraß bis 9^h 18', dann nur noch gelegentlich kurze Zeit; es blieben 155 g Futterrest. Es waren also in etwa 40 Minuten, wovon 26 bis 27 in die Zeit der Messung des Gaswechsels fielen, 1940 g Futter aufgenommen worden = 48,5 g pro Minute. Im vorigen Versuchsabschnitt waren 7150 g in 181 Minuten, also 39,5 g in der Minute, gefressen worden.

Die Analysen ergaben:

CO₂ O₃ N₂ CH₄
Anfangsgas: $0.172^{\circ}/_{0}$ $20.407^{\circ}/_{0}$ $79.410^{\circ}/_{0}$ $0.011^{\circ}/_{0}$ Endgas: $0.737^{\circ}/_{0}$ $19.860^{\circ}/_{0}$ $79.381^{\circ}/_{0}$ $0.022^{\circ}/_{0}$

Das auf 0°, 760 mm und Trockenheit reduzierte Gasvolumen war anfangs 77845 l, am Schluß 77096 l. Hieraus berechnet sich:

	CO _g	$O_{\mathbf{g}}$	N_{g}	CH ₄
Zu Anfang	133,66 l	15885,8 l	61 816,7 l	8,563 1
Zu Ende	568,20 l	15311,3 l	61 199,6 l	16,961 l
Differenz	+434,541	— 574,5 l	- 617,1 l	+ 8,398 1
Mittels Kubizierapparat				
ausgesaugt	4,49 l	179,3 l	708,7 1	0,150 l
	439,03 1	395,2 1	91,6 l	8,548 l

Mit 91,6	$1 N_2$ einge-							
drungen		0,12 l	24,2 l	91,6 l				
Gaswechsel	des Tieres .	438,91 l	419,4 l		8,545 l			
n	in 1 Minute	2438,40 ccm	2330,0 ccm		47,490 ccm			
Resp. Quotient 1,046.								

Zur Berechnung des Anteils der Kauarbeit am Gaswechsel können wir auf Grund der zitierten älteren Versuche annehmen, daß die minutliche Stoffwechselsteigerung durch das Kauen bei verschiedenem Futter nur in mäßigen Grenzen schwankt. Das Kauen hat im vorstehenden Heuversuch den Sauerstoffverbrauch um 854 ccm gesteigert, in dem nachfolgenden vom 27. Oktober um 229,0 l in 212 Minuten, also in der Minute um 1080 ccm-Im Mittel der beiden Werte wollen wir hier mit einer Steigerung des Sauerstoffverbrauchs um 967 ccm für jede Freßminute rechnen. Das wären für die erste Versuchsperiode $138 \times 0.967 = 133.4$ l, für die zweite Periode $26 \times 0.967 = 25.1$ l Sauerstoff, für das ganze Tagesfutter $224 \times 0.967 = 216.6$ l.

Nach Beendigung dieses Versuchs wurde wieder zum Heuregime des Stoffwechselversuchs vom 1. bis 6. Oktober zurückgekehrt, d. h. es wurden wieder täglich 9 kg Heu, 2 kg Hafer, 1 kg Zucker verzehrt. Hierbei wurde am 27. Oktober wieder ein Respirationsversuch gemacht. Das Pferd wurde früh 7h 30' nüchtern in den Kasten gebracht. Gewicht 578 kg. Von 8h 10' ab bestand Luftzirkulation durch den gekühlten Laugenturm, um 9h 15' fester Verschluß des Kastens, 9h 20' Laugenturm abgesperrt, Luftzirkulation durch die Umführung, 9h $32^{1}/_{2}$ ' Probenahme und Beginn des Versuchs. Nachmittags $5h 34^{1}/_{2}$ ' Schlußprobe und Ablesungen, also Versuchsdauer 482 Minuten.

Die analytischen Daten waren:

	CO^3	O³	N ₂	CH_4	Нg
Anfangsgas:	0,0940/0	$20,683^{\circ}/_{o}$	$79,219^{0}/_{0}$	$0,004^{0}/_{0}$	0,000%
Endgas:	1,6110/0	$19,132^{0}/_{0}$	$79,208^{\circ}/_{\circ}$	$0,043^{\circ}/_{0}$	0,006°/0
Red	uziertes	Luftvolumen	zu Anfang	77770,0	1
			am Schluß	76636,7	1.

Hieraus berechnet sich für den Inhalt des Kastens:

	COg	O _g	N,	CH ₄	$\mathbf{H}_{\mathbf{g}}$
Zu Anfang	73,10 l	16085,216	31 608,6 l	3,110 l	0,00 1
Zu Ende	1234,62 l	14662,116	60 702 ,4 1	32,954 l	4,60 l
Differenz	⊢ 1161,52 l <i>−</i>	- 1423,1 l -	- 906,21	+ 29,844 1 +	- 4,60 1
Mit Kubizierappa-					•
rat 1966,61 Gas					
ausgesaugt	16,59 l	391,7 l	1557,8 l	0,458 l	0,06 1
	1178,11 l	1031,4 l	651,6 l	30,302 1	4,66 l
Mit 651,6 l N ein-					
gedrungen	0,82 1	172,1 l	651,6 l		
Gaswechsel des					
Tieres	1177,29 l	1203,5 l		30,302 l	4,66 l
Gaswechsel i. 1 Min.	2442,50 ccm	2496,8 ccn	a —	62,860 ccm	9,67 ccm
	Res	p. Quotient	0,978.		
Gaswechsel pro kg	•	_	•		
und Min	4,226 ccm	4,320 ccn	a —	0,109 ccm	0,0167 ccm

9h 13' wurde dem Tier das ganze Tagesfutter vorgelegt; es fraß bis 12h 45' fast stetig und nahm in diesen 212 Minuten 8,47 kg auf, also pro Minute 40,0 g. In den 8,47 kg waren 6,35 kg Heu und 1,41 kg Hafer. (Von den 212 Freßminuten fallen 19 auf die Zeit vor der Anfangsprobe.) Hieraus berechnet sich der Verbrauch für Kauarbeit:

Für 6,35 kg Heu à 34,5 l
$$O_2 = 219,1$$
 l Sauerstoff
" 1,41 " Hafer à 6,8 l $O_2 = 9,9$ l "

Im ganzen für Kauarbeit . . . 229,0 l Sauerstoff.

Auf die Versuchszeit fallen 193 Minuten mit 208,5 l Sauerstoffverbrauch. Das ganze Tagesfutter erfordert 324,4 l Sauerstoff. Es bleiben für die übrigen Leistungen des Tieres während der Versuchszeit 995,0 l oder 2064,3 ccm Sauerstoff pro Minute, 3,571 ccm pro Kilogramm und Minute, d. h. ein sehr viel geringerer Sauerstoffverbrauch als im ersten Heufütterungsversuch. Trotzdem der Augenschein besonders lebhafte Bewegungen nur während eines kurzen Zeitraumes des ersten Versuchs feststellte, muß doch wohl der größere Sauerstoffverbrauch während desselben auf stärkere Muskeltätigkeit bezogen werden.

Nach Beendigung dieses Versuchs wurde der Kasten geöffnet und energisch ventiliert, dann noch die Luft mittels des gekühlten Laugenturms möglichst von Kohlensäure und Wasserdampf befreit. Das Tier wurde ohne Futter im Kasten belassen, um $6^h 38^{1/2}$ wurde der neue Versuch begonnen, um $9^h 53^{1/2}$ beendet. Er dauerte also 195 Minuten.

CO₅ O₆ N₈ CH₄ H₅

Anfangsgas: $0.131^{\circ}/_{0}$ $20.340^{\circ}/_{0}$ $79.509^{\circ}/_{0}$ $0.0167^{\circ}/_{0}$ $0.0016^{\circ}/_{0}$ Endgas: $0.623^{\circ}/_{0}$ $19.874^{\circ}/_{0}$ $79.468^{\circ}/_{0}$ $0.0310^{\circ}/_{0}$ $0.0040^{\circ}/_{0}$ Reduziertes Luftvolumen zu Anfang 77.368.0 l

"" Ende 76.571.7 l.

Hieraus berechnet sich für den Inhalt des Kastens:

	CO ₂	O _s	N_g	CH₄	H ₂
Zu Anfang	101,35 l	15 738,20 l	61 514,52 l	12,920 l	1,238 l
Zu Ende	477,04 1	15 217,86 l	60850,00 l	23,737 1	3,063 1
Differenz	+ 375,691 ·	— 520,34 l	— 664,52 l	+ 10,817 l -	- 1,825 l
Mit Kubizierap- parat 1130,6 l					
Luft ausgesaugt	4,33 l	227,26 l	898,70 1	0,272 1	0,032 1
	380,02 1	293,08 1	234,18 l	11,089 l	1,857 1
Mit 234,18 l N ₂ eingedrungen	0,30 1	61,84 l	234,18 l		
Gaswechsel des					
Tieres	379,72 l	354,92 1		11,089 l	1,857 l
Gaswechsel in					
1 Min	1947,3 ccm	1820,1 ccm		56,87 ccm	9,523 ccm
	•	Resp. Quotien	t 1,070.		
Gaswechsel pro					
kg und Min.	3,369 ccm	3,149 ccm	_	0,0984 ccm	0,0165 ccm

Der Sauerstoffverbrauch ist also in diesem Versuch, der die 9. bis 12. Stunde nach vollendeter Mahlzeit umfaßt, noch wesentlich niedriger geworden, als er in den vorangehenden Stunden nach Abzug der Freßarbeit war. Dieses Verhalten entspricht durchaus den früheren Befunden von Zuntz und Hagemann. Diese fanden (l. c. S. 282, Tab. XXXVII) im Mittel je einer größeren Anzahl zusammengehöriger Versuche in den ersten 3¹/₂ Stunden nach dem Fressen den Sauerstoffverbrauch pro Kilogramm und Minute = 3,676 ccm gegen 3,339 ccm 11¹/₂ Stunden nach dem Fressen. Die Differenz ist ganz ähn-

lich, wie sie sich hier nach einer ganz anderen Methode ergibt, wenn wir in der ersten Versuchsperiode die Freßarbeit rechnerisch ausschalten (3,575 ccm gegen 3,149 ccm), d. h. dort Abnahme um $9,2^{\circ}/_{0}$, in unserem Falle um $11,9^{\circ}/_{0}$.

III. Die Energieverluste durch Darmgärungen.

Bei der Fütterung mit dem Strohstoff haben wir in der ersten 8 stündigen Periode bei reichlichem Fressen (647 g Futter pro Stunde) eine Ausscheidung von 53,64 ccm CH₄ in der Minute, in dem späteren 3 stündigen Versuch bei einer Aufnahme von wieder 647 g Futter pro Stunde 47,49 ccm CH₄ in der Minute.

Da beim Pferde die Gärung erst einsetzt, nachdem die Nahrung den Magen und Dünndarm durchwandert hat, dürfen wir bei ihm nicht erwarten, daß die stärkste Gärung in den ersten Stunden nach der Futteraufnahme stattfindet, wie das beim Wiederkäuer der Fall ist. Es ist vielmehr wahrscheinlich, daß die Gärung auch in der Nüchternperiode, wenn dieselbe nicht länger als 12 Stunden dauert, nicht wesentlich absinkt. Wir werden deshalb mit dem Mittel obiger Zahlen 50,56 ccm CH₄ in der Minute oder 72,8 l in 24 Stunden rechnen.

Bei der Heufütterung wurden am 9. Oktober bei Aufnahme von 6,95 kg Futtermischung oder 829 g pro Stunde in der Minute ausgeschieden 74,53 ccm CH₄ und 3,22 ccm H₂ am 27. Oktober in der 8 stün-

digen Periode bei Aufnahme

von 1014 g pro Stunde . . 62,86 " " 9,67 " in der nachfolgenden $3^{1}/4$ stün-

digen Periode 9 bis 12 Stun-

den nach beendetem Fressen 56,87 " " 9,52 "

Diese Versuche bestätigen die obige Annahme, daß die Gärung auch längere Zeit nach dem Fressen nicht wesentlich absinkt. Wir dürfen das Mittel der drei Zahlen 64,75 ccm CH₄ und 7,47 ccm H₂ als Durchschnitt des Tages betrachten, so daß bei der Heufütterung 93,1 l CH₄ und 10,7 l H₂ in 24 Stunden gebildet würden.

Da beim Pferde die Hauptmenge der in den Verdauungssäften löslichen Kohlenhydrate — Zucker, Stärke — schon im Dünn-Biochemische Zeitschrift Band 78. darm resorbiert wird, nehmen nur die übriggebliebenen Reste von ihnen an den im Ileum beginnenden, im Blinddarm erst energisch einsetzenden Gärungen Anteil. Wir werden deshalb die Gärungsgase zunächst mit der verdauten Rohfaser in Beziehung setzen. Nun wurden bei der Strohstoffütterung täglich 2298,7 g, bei der Heufütterung nur 740,3 g Rohfaser verdaut. Es entfallen also auf 1 g verdauter Rohfaser

in der Strohstoffperiode: 31,67 ccm CH_4 0,00 ccm H_2 in der Heuperiode: 125,76 n n 14,45 n n

Abgesehen von der qualitativen Änderung des Gärungsprozesses, die sich im Fehlen des Wasserstoffs bei der Strohstoffütterung ausspricht, ist auch die Menge des pro Gramm Rohfaser gebildeten Methans in der Heuperiode die vierfache.

Zur Beurteilung dieser merkwürdigen Differenz wollen wir zunächst einige ältere Versuche am Pferde von Lehmann, Hagemann und Zuntz¹) heranziehen. Dort wurden bei einem aus 4800 g Hafer, 1880 g Heu und 800 g Strohhäcksel bestehenden Futter im Mittel von 3 je 24 stündigen Versuchen ausgeschieden 16.5 g = 23.07 l CH₄. An Rohfaser wurden 451.7 g verdaut. Es kommen also auf 1 g verdaute Rohfaser 51.1 ccm CH₄.

Drei weitere je 10 stündige Perioden umfassende Versuche lieferten, auf 24 Stunden und 1 g verdaute Zellulose berechnet, 78,4 ccm CH₄. Wasserstoff konnte in diesen Versuchen nicht bestimmt werden, weil keine geeignete Methode zur Verfügung stand, doch wurde auf einem Umwege, durch Untersuchung des Mastdarmgases, festgestellt, daß in diesem auf 53,2 Vol. CH₄ 2,35 Vol. H₂ enthalten waren, also auf 100 Vol. CH₄ = 4,42 Vol. H₂.

Unmittelbar nach dem Töten des Tieres entnommene Gasproben ergaben

```
aus dem Coecum auf 100 Vol. CH_4 = 16,80 Vol. H_2, aus dem Kolon auf 100 n n = 4,86 n n
```

Das brennbare Gasgemisch unseres Pferdes aber enthielt bei vorwiegender Heufütterung auf 100 Vol. $\mathrm{CH_4} = 11,5$ Vol. $\mathrm{H_2}$. Weitere Aufschlüsse geben die Erfahrungen von v. d. Heide

¹⁾ Landw. Jahrb. 23, 125, 1894.

und Klein¹) an Schweinen, deren Enddarm ja einigermaßen ähnliche Verhältnisse aufweist wie der des Pferdes. Hier wurden bei Erhaltungsfutter, das im ganzen 50 g Rohfaser enthielt, 13,5 l CH₄ und 19 l H₂ ausgeschieden. Es kommen also auf 1 g Rohfaser der Nahrung 270 ccm CH₄ und 380 ccm H₂, in einer zweiten Reihe bei Zulage reinen Fettes zu demselben Futter auf 1 g Rohfaser der Nahrung 286 ccm CH₄ und 238 ccm H₂, endlich in einer dritten Reihe, in der statt Fett Kohlenhydrat (Trockenkartoffeln) als Mastfutter diente, auf 1 g Rohfaser der Nahrung 484 ccm CH₄ und 221 ccm H₂. Von der Rohfaser wurde in diesem Falle nicht ganz die Hälfte (45,4 g) verdaut; auf 1 g verdauter Rohfaser kamen 1084 ccm CH₄ und 484 ccm H₂.

Diese Zahlen zeigen unwiderleglich, daß beim Schwein auch erhebliche Mengen verdaulicher Kohlenhydrate (Stärke) in den unteren Darmabschnitten vergoren werden. 1084 ccm CH, und 484 ccm H, liefern bei der Verbrennung 11,81 Cal, d. h. das Dreifache der Verbrennungswärme von 1 g Cellulose. Da nach den Erfahrungen Kellners, nach unseren Versuchen am Rinde und nach Markoffs Untersuchung der Pansen- und Enddarmgärung außerhalb des Körpers etwa 0,55 Cal aus dem gärenden Kohlenhydrat als brennbare Gase abgespalten werden, entsprechen die beim Schwein entwickelten Gasmengen der Vergärung von mehr als 21 mal so viel Kohlenhydraten, als Rohfaser verdaut wurde. Von im ganzen verdauten 4479 g Kohlenhydrat und 45,4 g Rohfaser wären hiernach etwa 958 g ver-Zur Erklärung müssen wir annehmen, daß die Verzuckerung und Resorption der Kohlenhydrate mit der Schnelligkeit ihrer Fortbewegung nach dem Blinddarm nicht Schritt hält. Ein gleiches dürfte beim Pferde stattfinden. Hier kommt aber noch der weitere Umstand in Betracht, daß sowohl im Heu wie im Hafer ein Teil der verzuckerbaren Kohlenhydrate in derbe Cellulosehüllen eingeschlossen ist, die durch das beim Pferd besonders gründliche Kauen doch nur teilweise gesprengt werden. Diese Kohlenhydrate werden daher erst nach Eröffnung der Hüllen durch die Blinddarmgärung den Verdauungssäften, zugleich aber den Gärungsorganismen zugänglich.

¹⁾ Stoff- und Energieumsatz des Schweines. Diese Zeitschr. 55, 195.

chemisch präparierten Strohstoff sind solche eingeschlossenen Kohlenhydrate nicht vorhanden. Unsere Fütterungsversuche mit staubfein vermahlenem Stroh 1) haben gezeigt, daß auch nach mechanischer Eröffnung der Zellen keine nennenswerten Mengen Kohlenhydrat daraus vom Schwein resorbiert werden. Die 30,85% N-freies Extrakt, die wir im Öxmannschen Strohstoff gefunden haben, gehören zum größeren Teil der Melasse an, womit das Material vor dem Trocknen gemischt wird, ein Teil aber ist wohl Cellulose, die durch das Kochen mit Ätzlauge unter hohem Druck soweit verändert war, daß sie sich beim analytischen Verfahren zur Gewinnung der Rohfaser löste. Es ist also begreiflich, daß diese N-freien Extraktstoffe schnell resorbiert werden und sich der Vergärung entziehen. auch wenn wir, wie oben geschehen, die Rohfaser als alleinige Quelle des gebildeten Methans betrachten, erscheint der Gärverlust des präparierten Strohstoffs sehr klein. 31,67 ccm CH, auf 1 g Rohfaser entspricht 301,6 cal, gegenüber 550 cal im Durchschnitt der vorher besprochenen Versuche.

In der Heuperiode dagegen haben wir auf 1 g verdauter Rohfaser in 125,76 ccm $\mathrm{CH_4}$ und 14,45 ccm $\mathrm{H_2}=1242,1$ cal. Hier ist also sicher neben der Rohfaser noch mehr als die gleiche Menge N-freien Extraktes vergoren. Nun ist noch zu bedenken, daß auch in der Strohstoffperiode 1,875 kg Heu und 2,0 kg Hafer, 579 g Rohfaser enthaltend, aufgenommen wurden. Davon sind nach Analogie des Heuversuchs 221 g verdaut worden, wobei unter Mitvergärung eingeschlossener Extraktstoffe 27,9 l $\mathrm{CH_4}$ entstanden sind. Diese Menge ist von den im Strohstoffversuch gebildeten 72,8 l $\mathrm{CH_4}$ abzuziehen. Es kommen also auf die aus Strohstoff verdauten 2078 g Rohfaser 44,9 l $\mathrm{CH_4}$ oder auf 1 g Rohfaser 21,61 ccm $\mathrm{CH_4}$ entsprechend 206 cal. Die Rohfaser des Strohstoffs wird also mit auffallend geringer Entwicklung brennbarer Gase gelöst.

Diese überraschende Beobachtung suchten wir durch einige Respirationsversuche am Schwein bei Aufnahme desselben Futters zu kontrollieren. Wir wissen durch die Arbeiten Fingerlings²),

¹) Brahm, v. d. Heide und Zuntz, Mitt. d. Deutschen Landw. Ges. 1915, Stück 16, S. 226.

²) Fingerling, Landw. Versuchsstat. 83, 181 und 84, 149.

daß der Strohstoff auch vom Schwein hochgradig verdaut wird. Das haben unsere später zu veröffentlichenden Versuche durchaus bestätigt. Hier sei zunächst aus unseren Respirationsversuchen nur die Ausscheidung brennbarer Gase im Verhältnis zur verdauten Rohfaser angeführt.

Borg Nr. 4, 37,5 kg wiegend, hat seit einer Reihe von Tagen täglich 700 g des auch beim Pferde verfütterten Strohstoffs, 200 g Kartoffelflocken und 1 l Milch, verzehrt. Am 9. XI. wurde ein in 3 Abschnitte zerlegter 24 stündiger Respirationsversuch angestellt. Zu Beginn des ersten Abschnittes fraß das Tier $^1/_8$ des Tagesfutters, zu Beginn des zweiten, nachmittags $6^{\rm h}$, den größten Teil des Restes. Es blieben von 1025 g Trockensubstanz 118,8 g übrig, so daß an diesem Tage nur $88,4^{\rm o}/_{\rm o}$ des Futters, von den 700 g Strohstoff 618,8 g verzehrt wurden. Im dritten Versuchsabschnitt blieb das Tier ohne Futter. Wasserstoff wurde nicht gebildet, die geringe Methanausscheidung war sehr gleichmäßig:

Im ersten Abschnitt 2,19 ccm pro Minute,

- n zweiten n 2,51 n n
- n dritten n 2,51 n n

Die gesamte Methanausscheidung betrug:

I.	In	480	Minuten	1,056 l	
II.	"	449,5	n	1,127 l	
III.	"	418	n	1,051 l	
	n	92,5	Zwischenminuten	0,233 1	(interpoliert)

In 1440 Minuten 3,467 l.

Die verzehrten 618,8 g Strohstoff enthielten 51,39°/₀, also 318 g Rohfaser, wovon wenigstens 270 g verdaut worden sind. Es kommen mithin auf 1 g verdaute Cellulose 12,8 ccm CH₄ = 121,9 cal. Der Verlust an brennbaren Gasen ist also noch geringer als beim Pferd, wo wir 206,9 cal gefunden hatten.

Ein zweiter, nur 16 Stunden umfassender Respirationsversuch wurde an demselben Schwein am 9. XII. ausgeführt. Das Tier hatte seit etwa 6 Wochen ständig Strohstoff in wechselnden Mengen erhalten; in den letzten Tagen je 500 g neben 2 l Milch und 200 g Kartoffelschnitzel. Am Versuchs-

tage wurde nur 1 l Milch gegeben und $^{1}/_{3}$ der Tagesportion zu Beginn des ersten Abschnitts, der größere Teil des Restes zu Beginn des zweiten Abschnitts gefressen. Wir können rechnen, daß bezogen auf 24 Stunden 231 g Zellulose aus Strohstoff verdaut wurden.

Die Ausscheidung brennbarer Gase war wieder in beiden Versuchsabschnitten recht gleichmäßig:

im ersten . . . 6,97 ccm CH_4 und 2,51 ccm H_2 pro Minute, im zweiten . . 8,505 n CH_4 n 3,06 n H_2 n n im Mittel . . . 7,738 ccm CH_4 und 2,79 ccm H_3 pro Minute. Das macht für

1440 Minuten: 11,143 l CH, 4,018 l H.

Auf 1 g verdauten Strohstoff kommen also in diesem Falle $48.2 \text{ ccm CH}_4 + 17.4 \text{ ccm H}_2 = 512 \text{ cal}.$

Es ist also hier die Menge des pro 1 g Rohfaser entwickelten Methans viermal so groß wie im vorigen Versuche. Der calorische Wert der brennbaren Gase erreicht denn auch in diesem Falle nahezu den Wert (550 cal), den wir bei anderer Rohfaser und bei Vergärung löslicher Kohlenhydrate mit Pansen- und Blinddarminhalt zu finden gewohnt sind. Das Mittel der beiden Versuche am Schwein übersteigt mit 317 cal den beim Pferd gefundenen Wert von 206,9 cal erheblich. Die Methanbildung scheint, wofür schon die Versuche von der Heides und Kleins sprachen, beim Schwein und wohl auch beim Pferd unregelmäßiger zu verlaufen als beim Wiederkäuer, wo eben fast die gesamten Kohlenhydrate der Nahrung der Gärung unterliegen, während bei den erstgenannten Tierarten nur ein je nach den Resorptionsbedingungen im Dünndarm stark wechselnder Teil der N-freien Extraktstoffe an der Gärung teilnimmt.

Beim Rind fand Kellner¹), daß nach Zulage von 3 kg Strohstoff mit 2207 g Rohfaser, wovon 2016 g verdaut wurden, die Methanmenge anstieg um 82.2 g = 114.7 l, das sind

¹⁾ Kellner, Landw. Vers.-Stat. 53, 425.

56,88 ccm pro Gramm mehrverdauter Cellulose. Da außerdem 444 g N-freies Extrakt mehr verdaut wurden, haben wir pro Gramm mehrverdauter Kohlenhydrate 46,63 ccm $CH_{A} = 444,1$ cal.

Der von Kellner verfütterte Strohstoff enthielt:

Rohprotein	N-fr. Extr.	Fett	Rohfaser	Asche
°/•	%	°/°	°/o	°/o
0,62	19,96	0,20	76,78	2,44

Unser mit angeblich 20% Melasse imprägnierter Strohstoff enthielt auf Trockensubstanz berechnet:

	R	ohprotein	N-fr. Extr.	Fett	Rohfaser	Asche
		°/o	°/o	°/o	°/•	%
		3,3 0	33,90	0,45	56,47	5,03
20°/0 M	elasse nach					
Kellne	rs Tabellen	2,10	12,08	_		1,44
80 º/o	Strohstoff	1,20	21,82	0,45	56,47	3,59
100 0/0	n	1,50	27,27	0,56	70,59	4,49

Unser Strohstoff weicht also in den wesentlichsten Bestandteilen, N-freies Extrakt und Rohfaser, nicht erheblich von dem von Kellner studierten ab. Von dem Strohstoff verdauten Kellners 2 Ochsen (l. c. S. 302):

89,1 resp.
$$87,6^{\circ}/_{0}$$
 organ. Substanz, 77,8 " $80,7^{\circ}/_{0}$ N-freies Extrakt, 97,0 " $94,7^{\circ}/_{0}$ Rohfaser.

Unser Pferd verdaute aus seinem Gesamtfutter:

 $77,26^{\circ}/_{\circ}$ organ. Substanz, $76,02^{\circ}/_{\circ}$ N-freies Extrakt, $87,50^{\circ}/_{\circ}$ Rohfaser.

Wenn wir wie oben annehmen, daß im Strohstoffversuch aus den 579 g Rohfaser des mitverfütterten Heus und Hafers 221 g verdaut wurden, ergäbe sich, daß von 2627 — 579 = 2048 g Rohfaser des Strohstoffs 2298,7 — 221 = 2077,7 g verdaut wurden. Es wären also 29,7 g Rohfaser mehr verdaut worden als vorhanden waren, d. h. die Verdaulichkeit der Roh-

faser von Heu und Hafer war etwas größer, als wir angenommen hatten. Das war eigentlich nicht zu erwarten, weil die schwer verdauliche Rohfaser des Hafers in diesem Versuch ebenso reichlich vorhanden war wie im Heuversuch, dagegen von der besser verdaulichen des Heus weniger als ein Viertel. Jedenfalls müssen wir aus dem Gesagten folgern, daß die Rohfaser des Strohstoffs beim Pferde fast restlos verdaut wird.

IV. Der Nährwert des Strohstoffs beim Pferde.

Der Vergleich von Tabelle IV (S. 165) und VI läßt uns ohne weiteres erkennen, daß beim Ersatz von 8435 — 1875 = 6560 g Heu durch 4000 g präparierten Strohstoff und 250 g Kleber dem Tiere unter Berücksichtigung der Verluste durch den Harn 25163 — 22601 = 2562 Cal mehr zur Verfügung standen. Der Verlust in Form brennbarer Gase betrug:

Hierdurch erhöht sich der Überschuß des Strohstoffs auf 2788 Cal. Es ist ferner der Energieverbrauch für Kauarbeit bei beiden Fütterungsweisen in Betracht zu ziehen. Wir berechneten bei Strohstoff den Sauerstoffverbrauch

```
Der respiratorische Quotient war im Mittel der 3 Bestimmungen bei Heufutter . . . 0,981, 

" 2 " Strohstoff . . . 0,978,
```

also fast identisch. Dem Quotienten 0,98 entsprechen 5,04 Cal pro Liter Sauerstoff. Es wurden also 543,3 Cal an Kauarbeit bei Strohstoff gespart. Dadurch wächst der Überschuß zugunsten desselben auf 3331 Cal.

Schließlich ist der aus dem Sauerstoffverbrauch zu berechnende 24 stündige Energieverbrauch des ruhig stehenden Tieres bei beiden Fütterungsweisen in Betracht zu ziehen. Im Versuch vom 9. X. 15 betrug der Gaswechsel

in 481,5 Min. 1291,7 l CO₂, 1432,3 l O₂; RQ = 0,895 die Kauarbeit erforderte

$$(8. 171) \dots 151,41 CO_{9}, 169,21 O_{9}$$

$$1140,31 CO_{9}, 1263,11 O_{9}$$

am 27. X. in 482 Min. $1177,31 CO_2$, $1203,51 O_2$; RQ = 0,978 die Kauarbeit erforderte

$$(8. 175) \dots 203,91 CO_{9}, 208,51 O_{9}$$

$$973,41 CO_{9}, 995,01 O_{9}$$

am 27. X. ohne Fressen

in 195 Min. 379,71 CO₂, 354,91 O₂; RQ = 1,070 Summe der 3 Versuche

in 1158,5 Min. . . . 2493,41 CO₂, 2613,01 O₂

Da der erste und zweite Versuch die Zeit des Fressens von je mehr als der Hälfte der Tagesportion und die darauffolgenden 5 bis $5^1/_2$ Stunden umfaßt, müssen wir für die an 24 Stunden fehlenden 281,5 Minuten den niedrigen Gaswechsel der späten Stunden nach dem Fressen am 27. X. annehmen, also:

für jede Minute . . . $1947,3 \text{ ccm CO}_{2}, 1820,1 \text{ ccm O}_{2}$ das macht

für 281,5 Min. . . 548,21 CO₂, 512,41 O₂

für 24 Std. bei heu-

reichem Futter . $3041,61 \, \text{CO}_2$, $3125,41 \, \text{O}_2$; RQ = 0,973

Am 19. X. bei Ersatz von 7 kg Heu durch 4 kg Strohstoff war der Gaswechsel:

in 480 Min. 926,11 CO_2 , 1018,31 O_2 ; RQ = 0,909 die Kauarbeit erforderte

nachher in 180 Min. . $438,91 \, \text{CO}_{2}$, $419,41 \, \text{O}_{2}$; RQ = 1,046 die Kauarbeit erforderte $26,31 \, \text{CO}_{2}$, $25,11 \, \text{O}_{2}$ $412,61 \, \text{CO}_{2}$, $394,31 \, \text{O}_{2}$

Da in diesen 480 + 180 = 660 Minuten fast das ganze Tagesfutter aufgefressen wurde, da sie also die Zeit der stärksten Verdauungsarbeit umfassen, muß der Gaswechsel des übrigen Tages niedriger gewesen sein. Wir überschätzen ihn also sicher, wenn wir für ihn den gleichen Wert wie für obige 660 Minuten, das sind

 1844.5 ccm CO_2 , 1938.2 ccm O_2 pro Minute einsetzen, also für 1440 Min. . . 2656.11 CO_2 , 2791.01 O_2 ; RQ = 0.952.

Da 1 l Sauerstoff beim RQ 0,973 = 5,03 Cal, beim RQ 0,952 = 5,01 Cal, beträgt der Energieverbrauch des ruhig stehenden Tieres mit Einschluß der Verdauungsarbeit bei vorwiegender Heufütterung 15726 Cal, bei Ersatz von 7 kg Heu durch 4 kg Strohstoff und 0,25 kg Kleber 13983 Cal. Es werden also im letzteren Falle 1743 Cal an Verdauungsarbeit gespart¹). Diese Ersparnis an Verdauungsarbeit bei einem Mehr von 701 g Rohfaser im Futter bestätigt aufs neue die Tatsache, daß Rohfaser verschiedener Beschaffenheit verschieden große Verdauungsarbeit bedingt. Kellner hat den Unterschied zahlenmäßig ausgedrückt, indem er bei Berechnung des Stärkewertes für jedes Prozent Rohfaser in Heu und Stroh 0,58 Teile, in Spreu nur 0,29 Teile Stärkewert abzieht und ebenso im Grünfutter den Abzug nach dem Grade der Verholzung des Futters abstuft.

¹) In dieser Zahl ist der Mehrverlust an Gärungswärme, den wir zu 70°/₀ der Brennwärme der mehr entwickelten brennbaren Gase, d. h. zu 158 Cal zu veranschlagen haben, inbegriffen.

Um dieses Übergewicht des Strohstoffs in Heuwert auszudrücken, müssen wir die Leistung von 1 kg Heu bei unserem Pferde berechnen.

dem Körper zugute kommen, wovon noch

Wir dürfen ferner hiervon den vollen Brennwert des Zuckers, der wohl als ganz verdaulich anzusehen ist, mit 3933 Cal abziehen. Das Unverdaute aus dem Hafer können wir mit Hilfe der von Kellner¹) angegebenen Verdauungskoeffizienten aus der Zusammensetzung unseres Hafers berechnen.

```
20^{\circ}/_{0} von 232,1 g Protein = 46,4 g à 5,7 Cal = 264,5 Cal = 29^{\circ}/_{0} n 83,4 g Fett = 24,2 g à 9,5 n = 230,0 n 71^{\circ}/_{0} n 195,0 g Rohfaser = 138,5 g à 4,19 n = 580,3 n²) 25^{\circ}/_{0} n 1041,0 g N-fr. Extr. = 260,0 g à 4,19 n = 1089,4 n = 1064,2 Cal.
```

Von den 8283,6 Cal des Hafers werden also 6119 resorbiert.

Für Hafer und Zucker zusammen haben wir 10052 Cal von den aus dem Futter zur Verfügung stehenden 21038 Cal abzuziehen. Es bleiben 10986 Cal, verdaut aus 9 kg Heu, oder 1221 Cal für 1 kg Heu. Die bei Strohstoff ersparten 5074 Cal entsprechen also $\frac{5074}{1221} = 4,16$ kg Heu.

Wir kommen so zu dem Ergebnis, daß 4 kg Strohstoff

¹⁾ Landw. Kalender 1915, S. 127.

^{*)} Der Gärverlust der "verdauten" Rohfaser des Hafers ist nicht zu berücksichtigen, da wir schon den Gesamtverlust durch Gärung mit 1563,3 Cal abgerechnet haben.

+ 0,25 kg Kleber dasselbe leisten wie 7 $+$ 4,1 $=$ 11,1 kg unseres Heues.
Die Verbrennungswärme der 250 g Kleber beträgt 1335 Cal, davon gehen mit 32 g N \times 7
sind etwa 0,9 kg Heu äquivalent, die 4 kg Strohstoff allein 10,2 kg Heu. Wenn wir den Nutzwert des von uns verfütterten Hafers
mit dem des Heus und so auch mit dem des Strohstoffs ver- gleichen wollen, können wir uns der Rechnungsweise von Zuntz und Hagemann bedienen. Unser Heu lieferte zu- sammen mit 2 kg Hafer und 1 kg Zucker . 24121 verdaute Cal,
davon kommen auf Zucker 3933
" " Hafer 6119
10052
auf 9 kg Heu
Als Verdauungsarbeit gehen ab: $9^{0}/_{0}$ von 14069 Cal 1266 Cal ferner für jedes Gramm Rohfaser 2,65 Cal, also für 1727 g 4577 Cal
im ganzen
Es bleibt als Nutzwert von 9 kg Heu . 8226 Cal n n n n n 1 kg n . 914 n
Unsere verfütterten 2 kg Hafer lieferten 6119 Cal. Von Hafer gehen ab: $9^0/_0 \ \text{der verdauten 6119 Cal} \ \ . \ \ . \ \ 550,7 \ \text{Cal} $ für 195 g Rohfaser à 2,65 Cal 516,8 n
Es bleiben als Nutzwert der 2 kg Hafer
Da wir 4 kg Strohstoff gleichwertig fanden mit 10,2 kg unseres Heues, sind sie es auch mit $\frac{10,2 \times 914}{2526}$ = 3,69 kg Hafer.

1 kg Strohstoff = 2,55 kg Heu = 0,92 kg Hafer.

Die Beigabe eines eiweißreichen Kraftfutters ist jedenfalls in der von uns gewählten Menge nicht nötig, da wir bei Zugabe von 200 g Protein im Kleber noch einen Ansatz von 87,6 g beobachteten. Eine Beigabe von 100 g Protein wäre sicher ausreichend gewesen.

V. Die Kalkbilanz bei Heu- und Strohstoffütterung.

Die Präparation des Strohstoffs entzieht ihm neben viel organischen Stoffen einen großen Teil der Mineralstoffe und bereichert ihn vielleicht einseitig an Natron. Im Vergleich mit Heu ist aber das Stroh an sich schon arm an Aschenbestandteilen, besonders an Kalk und Phosphorsäure. Die Zugabe von Melasse gleicht wohl den Verlust an Kali und Chlor genügend aus, nicht aber den Mangel an Kalk und Phosphorsäure. Es erschien deshalb wichtig, die Bilanz des Kalkes in den beiden Versuchsreihen aufzustellen, um so mehr, als die Bilanz der Gesamtasche bei Strohstoff stark negativ ist. Die Bestimmung der Asche in Nahrung und Kot hatte ergeben:

In der Heuperiode von 651,7 g verdaut . . 212,0 g,

" " Strohstoffperiode " 385,4 g " . . 109,3 g.

Der Resorption von 212,00 g Asche steht in der Heuperiode eine Ausscheidung von 90,51 × 2,2828 g = 206,62 g im Harn gegenüber. Es wurden also täglich 5,38 g Mineralstoffe angesetzt. — In der Strohstoffperiode war dagegen die Aschenbilanz negativ. Welchen Anteil hat nun der Kalk an diesem Verlust von Mineralstoffen?

Die analytischen Ergebnisse der Kalkbestimmung waren folgende:

1.	3,33 g Hafer lieferten ${1 \choose 2}$	$\frac{5.4 \mathrm{mg}}{5.4} \frac{\mathrm{CaO}}{n} 0.162 ^{\mathrm{o}}/_{\mathrm{o}} \mathrm{CaO}$
2.	3,33 g Heu lieferten \ldots $\begin{Bmatrix} 1 \\ 2 \end{Bmatrix}$	30.2 " $CaO \ 29.6$ " $CaO \ 0.897$ $^{\circ}/_{\circ}$ CaO
3.	$5.0 \text{ g Oxmann-Strohstoff lieferten} \cdot \cdot \cdot \begin{Bmatrix} 1 \\ 2 \end{Bmatrix}$	$\frac{38,0}{38,2}$ " $\frac{\text{CaO}}{\text{CaO}}$ 0,762% CaO
	$5.0 \text{ g Kleber lieferten} \dots \{1.2.$	
5.	11 Tränkwasser lieferte	0,078 mg CaO
6.	$3,33$ g Kot des Strohstoff-Vers. lieferten ${1 \choose 2}$.	34,0 " CaO 33,8 " CaO 1,017% CaO

Hiernach gestaltet sich die Kalkbilanz des Strohstoffversuchs wie folgt:

wie roige.	
Einnahme: In 4000 g Strohstoff	30,48 g CaO
» 1875 g Heu	16,82 g CaO
" 250 g Kleber	0,59 g CaO
" 2000 g Hafer	3,24 g CaO
" 16,6 l Tränkwasser .	1,29 g CaO
Summe der Einnahmen .	52,42 g CaO
Ausgabe in 2168,6 g Kot	22,05 g CaO
Resorbiert	30,37 g CaO
In 8682 ccm Harn	28,48 g CaO
Ansatz	1,89 g CaO
Bilanz des Heuversu	ichs.
Einnahme: In 8435 g Heu	75,66 g CaO
" 2000 g Hafer	3,24 g CaO
" 32,6 l Tränkwasser .	2,54 g CaO
Summe der Einnahmen .	81,44 g CaO
Ausgabe in 4945,7 g Kot	41,54 g CaO
Resorbiert	39,90 g CaO
In 9051 ccm Harn	58,97 g CaO
Verlust vom Körper	19,07 g CaO

Wir finden in scharfem Gegensatz zu dem, was wir auf Grund der Aschenbilanz und der oben ausgesprochenen Erwägungen erwarteten, in der Strohstoffperiode, trotzdem die Nahrung ¹/₈ weniger Kalk enthielt und trotzdem dieser Unterschied, wenn auch etwas vermindert, auch bei dem resorbierten Kalk sich zeigt, einen normalen kleinen Ansatz von Kalk. Dagegen zeigt die Heuperiode trotz der reichlicheren Zufuhr einen starken Kalkverlust, bedingt durch eine enorme Kalk-

ausscheidung im Harn. Zur Erklärung derselben kann man daran denken, daß bei reichlicher Heufütterung viel Hippursäure gebildet wird, die zu ihrer Neutralisation, wenn es an anderen Basen fehlt, Kalk in Anspruch nimmt. Daß der Harn der Heuperiode wesentlich reicher an aromatischen Substanzen, speziell an Hippursäure ist, zeigt seine hohe Verbrennungswärme. Auf 1 g N im Harne fanden wir

in der Strohstoffperiode . . 17,6 Cal

" Heuperiode . . . 23,46 "

Wenn der Harn in der	let	zte	ren	. :	Per	iod	Э	dieselbe	Zu-
sammensetzung wie in der erst	ere	n b	ätt	е,	kä	mer	1 &	uf die Ta	ges-
ausscheidung von 64,8 g N .			•				•	1140,5	Cal.
In der Tat hatte der Harn .							•	1520,1	"
also ein Mehr von								379,6	Cal.
Nun liefert ein g/Mol Hippurs	äur	в						1013,2	Cal
oder auf 1 g N $\frac{1013,2}{14}$		•						72,37	n
Harnstoff auf 1 g N								5,435	"
Hippursäure mehr auf 1 g N								66,935	Cal.

Das Mehr von 379,6 Cal könnte also darauf beruhen, daß $\frac{379,6}{66,935} = 5,671$ g N statt als Harnstoff im Harn als Hippursäure vorhanden wären. Zur Neutralisation dieser Hippursäure ist auf 2 Moleküle derselben 1 Molekül CaO erforderlich oder auf 28 g N der Hippursäure 56 g CaO. 5,671 g N in Hippursäure beanspruchen demnach $\frac{56}{28} \cdot 5,671 = 11,34$ g CaO. Faktisch enthält der Harn der Heuperiode 30,49 g CaO mehr als derjenige der Strohperiode. Welche Momente hier neben der Hippursäurebildung in Betracht kommen, müssen weitere Untersuchungen lehren.

Das gute Befinden der Pferde bei vorwiegender Ernährung mit Heu läßt es äußerst unwahrscheinlich erscheinen, daß dieses Futter in der Regel Kalkverluste bedingt. Wir dürfen aber in unserem Versuch eine neue Bestätigung der Erfahrung sehen, daß nicht die absolute Menge der Mineralstoffe, sondern die richtige Mischung derselben für die ausreichende Versorgung des Körpers mit denselben maßgebend ist. Die geringere Menge Kalk im Strohstoff war ausreichend, die größere im Heu nicht. Hierfür mag neben dem Bedürfnis der Neutralisation der Hippursäure die sehr viel stärkere Phosphorsäureausscheidung im Harn der Heuperiode in Betracht kommen. Es sind ja in der Literatur mehrfach Beobachtungen mitgeteilt, daß hoher Phosphorsäuregehalt der Nahrung zu Kalkverlusten führt.

Wir möchten die wichtigsten Ergebnisse unserer Untersuchungen in folgende Sätze zusammenfassen:

- 1. Die Rohfaser des Strohstoffs ist auch beim Pferde fast restlos verdaulich.
- 2. Die Verdauung der Rohfaser des Strohstoffs erfolgt beim Pferd und Schwein meist unter geringerer Bildung brennbarer Gase als die Verdauung der unpräparierten Rohfaser.
- 3. Bei Ersatz von Heu durch Strohstoff vermindert sich der Aufwand für Verdauungsarbeit erheblich.
- 4. 1 kg Strohstoff (mit $20^{0}/_{0}$ Melasse) stellt dem Körper wenigstens ebensoviel Energie zur Verfügung wie 2,55 kg Heu oder 0,92 kg Hafer.
- 5. Bei Strohstoffütterung ermöglichte 1 Teil verdautes Rohprotein auf 14 Teile N-freie Stoffe noch erheblichen Eiweißansatz.

Über die Zymase und Carboxylase der Kartoffel und Zuckerrübe.

Von J. Bodnár.

(Aus dem chemischen Laboratorium des kgl. ung. pflanzenphysiologischen und phytopathologischen Institutes in Budapest.)

(Eingegangen am 22. November 1915.)

Mit 2 Figuren im Text.

Aus der Identität der anaeroben Atmung höherer Pflanzen und der alkoholischen Gärung — oder richtiger aus der in dem Organismus der Pflanzen vor sich gehenden anaeroben Zersetzung des Zuckers — folgt, daß die Ergebnisse aller jener Untersuchungen, die uns zur näheren Erkenntnis der Biochemie der Gärung geführt, zugleich auch unser Wissen von dem Umsatz der Glucose in den höheren Pflanzen ganz wesentlich gefördert haben. So war z. B. die E. Buchnersche¹) Entdeckung des Hefensaftes für die Chemie der alkoholischen Gärung so wichtig, als dadurch die Unabhängigkeit der alkoholischen Gärung von der Lebenstätigkeit der Hefe dargetan wurde. Die Wichtigkeit dieser Entdeckung der Zymase auch für die höheren Pflanzen wurde durch zahlreiche Untersuchungen von J. Stoklasa²) und seinen Schülern bald nachgewiesen.

^{&#}x27;) E. Buchner, H. Buchner, M. Hahn, Die Zymasegärung. München-Berlin 1908.

⁹) J. Stoklasa, J. Jelinek und E. Vitek, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 8, 460, 1913. — Dieselben, Zeitschr. f. Zuckerindustr. in Böhmen 27, 633, 1903. — J. Stoklasa, F. Černý, J. Jelinek und E. Vitek, Centralbl. f. Bakt. Abt. II, 18, 86, 1904. — J. Stoklasa, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 22, 460, 1904. — J. Stoklasa, A. Ernst und K. Chocensky, Zeitschr. f. physiol. Chem. 50, 303, 1907; 51, 156, 1907.

Stoklasa isolierte mittels des Buchner-Albertschen Verfahrens aus höheren Pflanzen (aus den verschiedenen Organen der Zuckerrübe, Kartoffel, Erbsen und anderen Pflanzen) Präparate in festem Zustande, die ein solches Ferment enthielten, das bei Einwirkung auf Glucoselösung Alkohol und Kohlendioxyd erzeugte; diese Verbindungen entstanden, wie bei der alkoholischen Gärung, in charakteristischem Mengenverhältnisse.

Bezüglich der Zwischenprodukte der alkoholischen Gärung ist die in letzter Zeit von Neuberg¹) gemachte Entdeckung als wesentlichster Fortschritt zu betrachten. Neuberg fand in der Brenztraubensäure eine Verbindung auf, die durch die Wirkung lebender Hefen sowie von Preßsaft ebenso leicht und glatt in Gärung übergeht als die Glucose selbst. Bei der Gärung der Brenztraubensäure entstehen Kohlendioxyd und Acetaldehyd, welch letztere Substanz, um die Worte Neubergs zu gebrauchen, "zum Alkohol in näherer Beziehung steht als irgendeine andere Substanz, die jemals mit dem Gärungsproblem in Zusammenhang gebracht wurde", und deren Überführung in Alkohol demselben Autor mittels Hefe gelang.

Aus der Struktur der Glucose kann die direkte Abspaltung von Kohlendioxyd nicht erklärt werden, während sie aus der Brenztraubensäure, CH₃.CO.COOH — und zwar aus der Carboxylgruppe dieser Säure — ganz leicht verständlich ist, so daß das schon so lange der Lösung harrende Problem, auf welche Weise das Kohlendioxyd bei der alkoholischen Gärung entsteht, als gelöst betrachtet werden darf.

Diese Zersetzung der Brenztraubensäure erzeugt das vom Entdecker mit dem Namen "Carboxylase" bezeichnete Enzym, das ein Teilenzym des Fermentsystems Zymase bildet. Die Selbständigkeit der Carboxylase im Zymasesystem ist durch die Untersuchungen von C. Neuberg und P. Rosenthal³) nachgewiesen worden. Genannten gelang es, solche Zymasepräparate darzustellen, die Glucoselösungen unverändert ließen, während sie Brenztraubensäure unter Bildung von Kohlendioxyd und Acetaldehyd zersetzten.

¹⁾ C. Neuberg, Die Gärungsvorgänge und der Zuckerumsatz der Zelle. Monographie. Jena 1913. S. auch diese Zeitschr. 71, 1, 1915.

³) C. Neuberg und P. Rosenthal, diese Zeitschr. 61, 171, 1914.

Auf Grund der Entdeckung Neubergs gelang es W. Zaleski und E. Marx¹) bald auch die Anwesenheit der Neubergschen Carboxylase in einigen höheren Pflanzen (Erbsen, Lupinus, Vicia Faba usw.) nachzuweisen.

Stoklasa stellte nicht nur aus höheren Pflanzen, sondern auch aus dem tierischen Organismus (dem Blute und aus anderen Organen ausgepreßten Säften) Zymase enthaltende Präparate her. Die Angaben Stoklasas über die tierische Zymase stießen auf mehrfachen Widerspruch (Freindschmidt, Arnheim, Rosenbaum, Bendix, Batelli, Blumenthal, [P. Mazé]*), Portier, Harden und Maclean)⁸). Diese Forscher leugnen die Anwesenheit eines Enzyms, das der Zymase der Hefe ähnelt, in tierischen Geweben, und bestreben sich, die Wahrnehmungen Stoklasas auf die Wirkungen von Bakterien zu-Inwieweit die Behauptungen der genannten Forscher der Wirklichkeit entsprechen, ist heute überhaupt noch nicht entschieden und wird es auch so lange nicht sein, als bis im Untersuchungsmaterial nicht alkoholbildende Bakterien in solcher Menge vorgefunden werden, daß die von ihnen produzierte Alkoholmenge mindestens jener bei den Versuchen von Stoklasa gefundenen Alkoholmenge gleichkommt.

Über die Isolierung der Zymase aus höheren Pflanzen findet man in der Literatur außer den Untersuchungen Stoklasas folgende Angaben beziehungsweise Anschauungen, die diese Frage näher berühren.

P. Mazé*) bestrebte sich, aus Erbsensamen und aus 5 bis 10 cm langen Keimpflanzen der Erbsen die Zymase zu isolieren und gelangte zu folgenden Resultaten:

"... les cellules végétales (et animales) renferment de la zymase puisqu'elles produisent de l'alcool; mais les l'extraire".

In einer anderen Abhandlung sagt P. Mazé⁵) folgendes:

"... les fermentations qui se déclarent dans les milieux qu'ils

W. Zaleski und E. Marx, diese Zeitschr. 47, 185, 1912; 48, 175, 1912. — W. Zaleski, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 31, 349, 1913; 32, 457, 1914.

^{*)} P. Mazé, Ann. Inst. Pasteur 18, 535, 1904.

^{*)} C. Oppenheimer, Die Fermente und ihre Wirkungen 2, 739, Leipzig 1913.

⁴⁾ P. Mazé, Ann. Inst. Pasteur 18, 378, 1904.

⁵) P. Mazé, l. c. 18, 535, 1904.

réalisent sont dues, d'après mes résultats à des microbes et non à la zymase isolée des cellules végétales (ou animales). Mais je ferai remarquer ioi une fois de plus qu'il ne résulte pas des faits qui précédent que les cellules animales et végétales ne renferment pas de zymase. Elles produisent de l'alcool lorsqu'on les prive d'air; et l'on ne peut attribuer sa production qu'à la zymase.

In der Abhandlung "Anserobe Atmung, Alkoholgärung und Acetonbildung" von W. Palladin und S. Kostytschew¹) über die Zymase steht folgendes:

"Nach den Untersuchungen Stoklasas ist auch die anaerobe Atmung der Zuckerrübe mit der Alkoholgärung identisch. Dieser Forscher hat außerdem die wichtige Tatsache hervorgehoben, daß ihm die Darstellung der Zymase aus verschiedenen pflanzlichen und tierischen Objekten gelungen sei. Da aber eine ganze Reihe von Beobachtungen verschiedener Forscher den Angaben Stoklasas widerspricht und schlagende Einwände gegen die Methodik des böhmischen Forschers seitens Mazé und Portier geltend gemacht worden sind, so können wir die Frage von der Darstellung der Zymase aus Samenpflanzen und Tiergeweben noch nicht für abgeschlossen halten." . . . "Die Meinung Mazés, Godlewskis und Stoklasas bezüglich der Anwesenheit der Zymase bei Samenpflanzen wird durch unsere Versuche bestätigt. Es bleibt noch freilich dahingestellt, ob die Zymase der Samenpflanzen mit der Hefezymase identisch ist."

H. M. Vernon²) sagt über die pflanzliche Zymase folgendes:

- "... bis aber bestätigende Beweise von anderen Forschern erhalten werden, ist es besser, diese scheinbare Isolierung der Pflanzenzymase nicht als bewiesen anzunehmen."
- Th. Weevers³) stellte aus den Blumen und Blättern der Sauromatum venosum Schott ein solches Rohenzym dar, das die Glucoselösung unter Bildung von Kohlensäure und organischen Säuren ohne gleichzeitige Bildung von Alkohol zersetzte.
- S. Kostytschew⁴), der bei dem Studium der anaeroben Atmung der Kartoffelknolle die Proportion C₂H₅OH: CO₂ trotz des in genügender Menge vorhandenen Zuckers in jedem Falle bedeutend kleiner⁵)

¹⁾ W. Palladin und S. Kostytschew, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 24, 273, 1906.

⁹⁾ L. Asher und K. Spiro, Ergebnisse der Physiologie 9, 210, 1910.

³⁾ Th. Weevers, Koninklijke Akademie v. Wetenschap. te Amsterdam 1911, 370. S.-A.

⁴⁾ S. Kostytschew, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 31, 125, 1913.

⁵) Stoklasa fand bei der Untersuchung der anaeroben Atmung der Kartoffelknolle, daß das $C_2H_6O:CO_q$ -Verhältnis ($CO_q=100$) 85,9, 109,7, 114,8 beträgt. Dagegen hat Kostytschew diese Daten erhalten I:50, II:35, III:28, IV:18, V:7, VI:0, unter denen sich bloß die V. auf ruhende Knolle bezieht, weil die III. der Wirkung eines trauma-

fand als bei der alkoholischen Gärung, leitet als wahrscheinliche Folgerung hieraus ab, daß dieses Phänomen auf einen Mangel der Zymase in der Kartoffelknolle zurückzuführen ist.

In der Praxis ist es sehr wichtig, die aus der Erde herausgegrabenen Kartoffeln und Zuckerrüben längere Zeit so aufzubewahren, daß die Verringerung des Stärke- beziehungsweise des Zuckergehaltes möglichst gering ist.

Man weiß, daß die Ursache der Verminderung des Reservestoffes auf die Atmung der betreffenden Organe zurückzuführen ist, und somit ist es nicht nur vom wissenschaftlichen, sondern auch vom praktischen Standpunkt aus äußerst wichtig, daß man über die Möglichkeit der Herstellung der in der Atmung der Pflanzen eine so bedeutende Rolle spielenden Zymase aus dem Reservestoffbehälter der Kartoffel und Zuckerrübe — unter Bezugnahme auf die oben erwähnten Ansichten und des über die tierische Zymase Gesagten — endgültig ins Reine kommt.

Bei den in Mieten gelagerten Kartoffeln und Zuckerrüben geschieht die Atmung hauptsächlich auf anaerobe Art; demnach würde das Kohlendioxyd nach der Analogie mit der alkoholischen Gärung durch die Wirkung der Carboxylase über die Brenztraubensäurestufe entstehen.

Wenn tatsächlich das aus den Reservestoffbehältern der Kartoffel und Zuckerrübe isolierte und die Zymase enthaltende Rohenzym — die Carboxylase ist ja ein Glied des Zymasesystems — auf die Brenztraubensäure in der für Carboxylase charakterisierenden Art einwirkt, so kann die Frage der Herstellung der Carboxylase aus den erwähnten Pflanzenorganen als gelöst betrachtet werden. Unter anderem wäre das ein neuer Beweis dafür, daß die Zymase der Kartoffel und der Zuckerrübe mit der der Hefe wesensgleich ist.

Bei der Herstellung von Zymase und der Prüfung ihrer Wirkung auf die Glucoselösung verfuhr ich im wesentlichen nach Stoklasa; daher werde ich im folgenden statt eine detaillierte Beschreibung des Ganges der ganzen Untersuchung zu geben, nur über jene Untersuchungen eingehender sprechen,

tischen Reizes unterworfen war, bei der I., II. und IV. Knolle der Zuckergehalt durch Abkühlung gesteigert wurde (bei der Knolle II wirkte außerdem ein traumatischer Reiz) und endlich die VI. Knolle in der Keimung war.

die abweichend von der Originalmethode Stoklasss ausgeführt wurden.

Schon hier schicke ich voraus, daß eine ganz besondere Sorgfalt auf den Gesundheitszustand der zu meinen Prüfungen benützten Kartoffeln und Zuckerrüben verwendet wurde, weil die Beachtung dieses Umstandes (siehe Angaben der Tabellen II und III) hinsichtlich der angeblichen Rolle der Bakterien eine große Rolle spielt.

Die während 30 Minuten mit 0,5% iger Sublimatlösung sterilisierten und mit keimfreiem destillierten Wasser abgewaschenen Pflanzenorgane werden mittels der Suckowschen Rübenmühle zu feinem Brei zerrieben und der so gewonnene Brei mit der Buchnerschen Presse unter einem Druck von 300 bis 400 Atmosphären ausgepreßt. Der aus dem gepreßten Saft mit einer Mischung von Alkohol und Äther gewonnene Niederschlag wurde durch sterile weiße Leinwand rasch filtriert und das erhaltene Rohenzym sorgfältig in einem sterilisierten Vakuumapparat getrocknet. Als Vakuumgefäß diente ein mit Glashahn versehener Scheiblerscher Exsiccator, in dessen unterem Teile sich 30 bis 40 ccm Toluol befanden. Ob das Innere des Exsiccators während der Austrocknung der Enzyme steril bleibt, wurde auf folgendem Wege geprüft. In einigen Fällen wurden gleichzeitig mit dem Einlegen der Rohenzyme in den Exsiccator auch je 20 ccm 20% iger sterilisierter Rohzucker- und Glucoselösungen in flachen Porzellanschalen in den Exsiccator gebracht. Nach Beendigung der Trocknung wurden die Lösungen auf Zuckergehalt und die Rohenzyme wie die Zuckerlösungen auf Anwesenheit von Bakterien geprüft. Die Ergebnisse eines solchen Versuches zeigt folgende Tabelle.

Tabelle I.

Rohrzuel	kerlösung	Glucose	Prüfung		
vor Austrocknung	nach Austrocknung	vor Austrocknung °/ ₀	nach Austrocknung	anf	
19,81	19,75	19,60	19,64	negativ	

Die Daten dieser Tabelle beweisen, daß eine Verunreinigung der Rohenzyme im Laufe des Trocknens nicht stattfindet.

Nach A. Harden¹) soll Stoklasa bei seinen Untersuchungen nur aus dem Grunde keine Bakterien gefunden haben, weil er zu spät — erst nach Abschluß des Versuches — in der vergorenen Flüssigkeit nach denselben gesucht habe, zu einer Zeit, wo schon sämtliche Bacillen zugrunde gegangen waren.

In Anbetracht dieses Umstandes untersuchte ich die Wirkung der Rohenzyme auf die Glucoselösung in einem 500 ccm fassenden Rundkolben, aus dem seitlich (Fig. 1) ein mit zwei Hähnen (ein Zweiweghahn b und ein Dreiweghahn a) versehenes Schieberohr führte. Mit Hilfe dieses Schieberohres konnte man den Inhalt des Kolbens während des ganzen Verlaufes des Versuches — ohne nennenswerte Störung des Versuches — auf die Anwesenheit von Bakterien untersuchen.

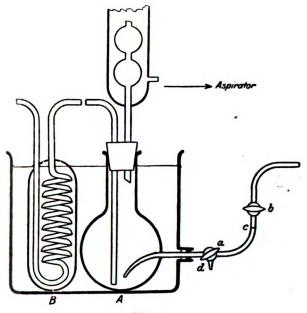


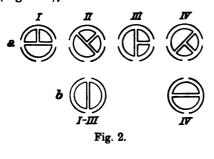
Fig. 1.

Das Entnehmen der zur bakteriologischen Prüfung nötigen Flüssigkeitsprobe aus dem Kolben wird auf folgende Weise vollzogen. Nach entsprechender Stellung der Hähne a und b

³) C. Oppenheimer, Die Fermente und ihre Wirkungen 2, 739, Leipzig 1913.

200 J. Bodnár:

(Fig. 2 I) wird in dem Schieberohr mittels eines Gummischlauches 1) so viel Flüssigkeit aus dem Kolben aufgesaugt, daß dieselbe beiläufig bis c reicht, worauf der Hahn a geschlossen wird (Fig. 2 II); nach Sterilisation des Endes von Hahn a mit einer



Glasslamme werden von der aufgesaugten Flüssigkeit mittels langsamen Umdrehens des Hahnes a in die auf Fig. 2 II ersichtliche Lage die zur bakteriologischen Untersuchung nötigen Tropfen durch das Röhrchen d abgelassen.

Nach dem Entnehmen der Flüssigkeitsprobe wurde die aufgesaugte Flüssigkeit wieder in den Kolben zurückgelassen und durch das Schieberohr 1 bis 2 Minuten sterilisierte und CO₂-freie Luft durchgesaugt (Lage der Hähne Fig. 2 IV) und hierauf beide Hähne geschlossen.

Die durch den Kolben gesaugte Luft strömte, bevor sie in denselben gelangt war, durch zwei Waschflaschen und drei Trockentürme, die in der Ordnung von links nach rechts mit folgenden Substanzen gefüllt waren:

a) Bruns-Watte; b) konz. Sublimatlösung; c) konz. Kalilauge; d) Natronkalkkörnchen; e) mit Toluol getränkte Bruns-Watte.

Der letzte linke Trockenturm war mit einem sorgfältig sterilisierten und mit einem Glasmantel geschützten Spiralrohr (B) verbunden, das mit dem Kolben während der Dauer des Versuches in einem Wasserbade von 37° stand.

Das Ausgangsrohr des Kolbens bildete ein mit Eiswasser gekühlter, 30 cm langer Allihnscher Kühler, dessen oberes Ende sich in ein _ förmiges Rohr fortsetzte; das untere Ende des letzteren stand mit einem mit CuSO₄ getränkten Bimstein

¹) Der Gummischlauch wurde nicht direkt auf das Ende des Schieberohres aufgezogen, sondern zwischen beiden eine Waschflasche mit konz. KOH und ein Trockenturm, in dem sich zwischen Brunswatte zerstreut von CuSO₄ durchgetränkter Bimstein und Natronkalkkörnchen befanden, eingeschaltet. Im unteren breiten Teile des Trockenturmes befand sich konz. Sublimatlösung.

enthaltenden U-Rohr, mit 4 größeren U förmigen CaCl₂-Röhren und schließlich mit einem 15 Liter fassenden Aspirator in Verbindung. Zwischen dem zweiten und dritten CaCl₂-Rohr war zur Absorbierung des sich aus dem Kolben entfernenden CO₂ ein Geißler-Wetzelscher Kaliapparat angebracht.

Bezüglich der Durchführung des Versuches beziehe ich mich auf die Originalmitteilungen von Stoklasa, während über den Nachweis der entstandenen Verbindungen bzw. deren quantitativer Bestimmung ich folgendes mitteilen möchte.

Zum qualitativen Nachweis des Alkohols wurden die Reaktionen von A. Müntz¹) und M. Berthelot³) benützt, welch letztere zur Kontrolle der Müntzschen Reaktion diente. Die Bestimmung der entstandenen Alkoholmenge wurde nach der Vorschrift W. Palladins³) mit dem Reischauer-Aubryschen Pyknometer durchgeführt.

Die in Tabelle II ersichtliche Menge von CO₂ ergab sich aus der Gewichtsvermehrung des Kaliapparates und aus der in der Versuchslösung absorbierten Menge von Kohlensäure.

Die nach Beendigung des Versuches in den Uförmigen Röhren zurückgebliebene geringe Kohlensäure wurde in den Kaliapparat hinübergetrieben. Zur Bestimmung der in der Versuchslösung absorbierten Kohlensäure wurde das Verfahren von Fresenius-Classen⁴) benützt.

Die Anwesenheit von Milchsäure wurde in der nach Destillation des Alkohols zurückgebliebenen Flüssigkeit mittels des Uffelmannschen⁵) Reagens und durch den Nachweis des Acetaldehyds bzw. Jodoforms festgestellt. Die Bestimmung der Milchsäure wurde in dem mit Äther ausgeschüttelten (die Milchsäure enthaltende Lösung wurde mit Phosphorsäure angesäuert) und mit Lauge neutralisierten Material nach der Methode von A. Partheil⁶) durchgeführt.

¹⁾ A. Müntz, Compt. rend. 78, 496, 1871.

²) M. Berthelot, Ann. de chim. et de phys. 13, 543, 1878.

^{*)} E. Abderhalden, Handb. d. biochem. Arbeitsmeth. III, 1, 509, Berlin-Wien 1910.

⁴⁾ A. Classen, Ausgewählte Meth. d. analyt. Chem. 2, 653, Braunschweig 1903.

b) E. Schmidt, Ausführliches Lehrbuch d. pharmaz. Chem. 2, 549, Braunschweig 1910.

⁶⁾ A. Partheil, Arch. d. Pharm. 1908, 432.

Die Essigsäure wurde aus der mit Schwefelsäure angesäuerten Lösung durch Wasserdampf abdestilliert und in dem gewonnenen Destillate mittels FeCl₃ und der Kakodylreaktion¹) nachgewiesen. Die quantitative Bestimmung³) wurde auf titrimetrischem Wege (der benützte Indicator war Phenolphthalein) durchgeführt.

Die neben der Essigsäure gewiß in Spuren anwesenden homologen Säuren wurden als Essigsäure in Betracht gezogen.

Zu jeder einzelnen Bestimmung wurden 10 g von dem pulverigen Rohenzym und 100 ccm von der $15\,^{0}/_{0}$ igen Glucoselösung — welch letztere auch $1\,^{0}/_{0}$ K₃PO₄ enthielt — benützt. Die in der Tabelle II ersichtlichen Angaben beziehen sich auf Rohenzym von je 10 g. Das zur Herstellung der Glucoselösung benützte destillierte und sterilisierte Wasser wurde mit Toluol gesättigt. Das benützte Antisepticum war nämlich in jedem einzelnen Falle Toluol in $2\,^{0}/_{0}$ Menge. Den Eintritt des Gärungsprozesses konnte man sofort bei Beginn des Versuches konstatieren.

Tabelle II.

Nummer	Zur Darstellung der Enzyme benütztes Pflanzenorgan	Gesundheits- zustand des Pflanzen- organes	Z Dauer des	CO _s	Alko- hol	Milch- säure g	Essig- säure g	C,H,O: CO.
1	Kartoffelknolle	gesund	60	0,426	0,449	0,181	0.042	105,4
2	do.	gooding.	60	0,293	0,306	0.106	0,061	104,4
3	do	krank	60	0,315	0		0,292	0
4	Zuckerrübenwurzel	gesund	60	0,576	0,581	0,198	0,098	100,8
5	do.	, n	60	0,612	0,619	_	_	101,1
6	Kartoffelknolle	n	60	0,381	0,351	0,092	_	92,1
7	do	krank	60	0,406	nach- weisbar	 	0,207	0
8	do	gesund	64	0,182	0,189	0.058	0.021	103,8
9	Zuckerrübenwurzel	krank	60	0,197	0,058	0,042	0,042	29,4
10	do.	gesund	60	0,220	0,261	-	0,057	118,6
11	do.	'n	60	0,518	0,548	0,123	—	105,7

Ich erwähne noch, daß die zu diesen Untersuchungen benützten Kartoffelknollen in vollständigem Ruhezustande waren

¹) E. Schmidt, Ausführliches Lehrbuch d. pharmaz. Chem. 2, 395, Braunschweig 1910.

^{*)} Nach der Abwägung des Kaliapparates wurde auch die in der Kalilauge absorbierte kleine Menge Essigsäure bestimmt. Die Essigsäuremenge wurde von der Menge des CO₂ in Abzug gebracht und zur Essigsäure gerechnet.

und die einzelnen Proben aus verschiedenen Sorten bestanden. Die Zuckerrüben waren im Herbste aus der Erde ausgegraben und wohl entwickelte Exemplare.

Tabelle III.

			Prüfu							
Nr.	Zeit in Stunden vom Beginne des Versuches bis zur Probeentnahme								Bemerkungen	
	1/2	2	5	10	20	30	50	60		
1 2 3 4 5 6	negativ negativ — positiv — - + + + - - - negativ — + + + + -? + +							Kultur war verschimmeit.		
7 8 9 10 11	-	l		neg poe neg	sitiv ativ sitiv ativ ativ				Anstatt 60 Std. 64 Std.	

Aus den Angaben der Tabellen II und III, die sich auf gesunde Pflanzenorgane beziehen, ist folgendes zu entnehmen:

Das aus dem Reservestoffbehälter der Kartoffel und Zuckerrübe isolierte Rohenzym wirkte derart auf die Glucoselösung, daß die Menge des entstandenen Alkohols und der Kohlensäure in jedem Falle sehr nahe an die für die alkoholische Gärung charakterisierenden 104,5 (CO₂ = 100) Proportionswerte kam. Trotzdem bei Anwesenheit von $2^{\circ}/_{0}$ Toluol doch in zwei Fällen (4 und 6) die Anwesenheit von Bakterien in der gärenden Flüssigkeit nachweisbar war, war in den übrigen Fällen 1, 2, 5, 8, 10, 11 die gärende Lösung frei von Bakterien.

Die Anwesenheit von Bakterien ist auch nur vom Standpunkt des Wesens der Frage von Wichtigkeit, in welchem Maße dieselben, oder ob sie überhaupt fähig sind, auf die Glucoselösung nach Art der Zymase zu wirken.

Zur Lösung dieser Frage wurden die in der gärenden Flüssigkeit gefundenen Bakterien in Bouillon gezüchtet und, nachdem sie sich darin in der nötigen Menge vermehrt hatten (1 ccm enthielt 12600 Bakterien), aus dieser Bouillonzüchtung 10 ccm zum Gemisch von 100 ccm Glucoselösung und 10 g des durch Aufkochen inaktivierten Rohenzyms hinzugefügt und die Untersuchung auf die bereits bekannte Weise durchgeführt. Das Resultat der Untersuchung, die 60 Stunden währte, war, daß sich 65 mg Kohlensäure bildete, während von Alkohol nicht einmal Spuren in der Untersuchungsflüssigkeit gefunden wurden.

Auf Grund dessen kann man definitiv aussprechen, daß die Zymase aus dem Reservestoffbehälter der Kartoffel und Zuckerrübe in festem aktiven Zustand isoliert werden kann, womit die sich hierauf beziehenden Wahrnehmungen Stoklasas auf Grund meiner eigenen Untersuchungen ihre Bestätigung fanden.

Sehen wir nun, auf welche Art die aus den kranken Pflanzenorganen hergestellten Enzyme auf die Glucoselösung wirkten.

Im Falle der Kartoffelknollen Nr. 3, die an Ringkrankheit¹) litten, konnte man die Anwesenheit von Alkohol in der Untersuchungsflüssigkeit überhaupt nicht konstatieren; hingegen bildete sich die Essigsäure in viel größerer Menge als bei den aus gesunden Knollen hergestellten Rohenzymen; auch konnte man Bakterien in großer Anzahl in der Untersuchungsflüssigkeit vorfinden. In diesem Falle konnte man in den zuerst unter anaeroben (in N-Atmosphäre), sodann unter aeroben Umständen aufbewahrten kranken Knollen eine bedeutendere Menge von Essigsäure nachweisen, und somit ist es sehr wahrscheinlich, daß die Bakterien — mit Rücksicht auf das zur Darstellung des Enzyms benützte Verfahren — in Form von Sporen aus kranken Knollen und nicht aus der Umgebung in

¹) Die Ringkrankheit der Kartoffel (O. Appel, Kaiserliche Biologische Anstalt für Land- und Forstwirtschaft, Flugblatt Nr. 36) in den Knollen zeigt sich — wenn sie auch im gegenwärtigen Fall stärker auftrat — darin, daß bei den entzweigeschnittenen Knollen von der Schale nach innen parallel mit der Kreislinie fortschreitende Ringe bräunlichschwärzlicher Färbung wahrnehmbar sind, welche Färbung von den die Gefäßbündel ausfüllenden Bakterien herrührt. Die in den kranken Knollen auffindbaren Bakterien gelangen vom Boden in die Knollen und je nach der sich ändernden Bakterienflora des Bodens folgt, daß wenn irgendeine Bakteriengattung sich in ein und demselben Knollen vorfindet, sie sich nicht in einem aus einer anderen Gegend stammenden kranken Knollen auch vorfinden muß.

das Rohenzym gelangten und von demselben in die Glucoselösung, wo sie sich dann — trotz des anwesenden Antisepticums 1) — vermehrten; mittels der auch in den Bodenbakterien vorkommenden Alkoholoxydase wurde der gebildete Alkohol sofort zu Essigsäure oxydiert. Ähnlich ist der Fall auch bei der ringkranken Kartoffel Nr. 7, mit dem Unterschiede, daß hier auch Gegenwart von Alkohol konstatiert werden konnte, also nicht der sämtliche Alkohol zu Essigsäure oxydiert wurde.

Die den Alkohol zu Essigsäure oxydierenden Eigenschaften der in der Untersuchungsflüssigkeit gefundenen Bakterien waren nach dem Verfahren von M. W. Beijerinck³) mittels Züchtung auf Calciumcarbonat und Äthylalkohol enthaltender Biergelatine nachweisbar. Die Anwesenheit ähnliche Eigenschaften besitzender Bakterien wurde auch in den aus originalen kranken Knollen direkt gewonnenen Züchtungen nachgewiesen.

Die Zuckerrübe Nr. 9 hat an Rübenschwanzfäule³) gelitten. Durch die Wirkung des aus dieser Rübe hergestellten Rohenzyms entstand aus der Glucoselösung viel weniger Alkohol als erwartet wurde. Der fehlende Alkohol konnte sich nicht zu Essigsäure umbilden, weil die Menge derselben bei schwanzfaulen Zuckerrüben die bei gesunden Zuckerrüben gefundene größte Menge von Essigsäure nicht überstieg; die Anwesenheit von Bakterien konnte in der gärenden Flüssigkeit nachgewiesen werden. Die Aufgabe der weiteren Forschung ist es, zu entscheiden, ob die Umbildung des entstandenen Alkohols oder irgendein mit der alkoholischen Gärung parallel fließender und CO₂ erzeugender Prozeß die obige Erscheinung hervorgerufen hat.

Zum Nachweise der Carboxylase in dem Rohenzym der Reservestoffbehälter der Kartoffel und Zuckerrübe benützte ich dieselbe Versuchseinrichtung wie bei der Untersuchung auf Zymase mit dem Unterschiede, daß ich statt der Glucoselösung die Wirkung des Rohenzyms auf 10/0 ige Brenztraubensäure-

^{1) &}quot;In Gegenwart von Toluol oxydieren die Essigbakterien Alkohol viel energischer als die Acetonpräparate." (L. Asher und K. Spiro, Ergebn. d. Physiol. 12, 191, 1912.)

⁹) E. Abderhalden, Handb. d. biochem. Arbeitsmeth. III, 2, 1265. Berlin-Wien 1910.

^{*)} J. Bodnár, diese Zeitschr. 69, 254, 1915.

lösung untersuchte und die Untersuchung nicht bei 37°, sondern bei Zimmertemperatur ausführte.

Daß das Rohenzym der Kartoffel und Zuckerrübe auf die Brenztraubensäure zersetzend einwirkt, beweist gleich die am Anfang des Versuches beginnende Entwicklung eines Gases, das sich als CO₂ erwies. Ferner konnte man in der aus dem Gehalte des Kolbens abdestillierten Flüssigkeit mittels der Reaktion von Rimini (Nitroprussidnatrium + Piperidin) die Anwesenheit von Acetaldehyd nachweisen.

Auf Grund dessen befindet sich auch im Zymasesystem der Kartoffel und Zuckerrübe die Neubergsche Carboxylase.

Untenstehende Tabelle IV zeigt die Menge der aus der 1°/0 igen Brenztraubensäurelösung durch die Wirkung der in dem Rohenzym enthaltenen Carboxylase entstandenen Produkte. Zur Bestimmung des Acetaldehyds wurde zum Destillat eine essigsaure Lösung von p-Nitrophenylhydrazin hinzugegeben. Nachdem der ausgeschiedene krystallartige Niederschlag 1 Stunde gestanden hatte, wurde durch einen Goochtiegel filtriert und nach Trocknung bei 90° gewogen.

Nr.	Zur Darstellung der Enzyme benütztes Pflanzenorgan	Dauer des Versuches Std.	CO _s	Acetaldehyd g	
1	Kartoffelknolle	48	0,208	0,185	
2	do	60	0,242	0,198	
3	Zuckerrübenwurzel	48	0,181	0,169	
4	do	60	0,214	0,199	

Tabelle IV.

Neuberg und seinen Mitarbeitern gelang es, eine Reihe besonderer Eigenschaften der Carboxylase festzustellen, welche die Carboxylase von den übrigen Enzymen der Zymase unterscheiden. Gewisse äußere Einwirkungen beeinflussen nämlich störend die Tätigkeit jener Zymaseenzyme, welche die 3 atomigen Verbindungen aus der Hexose bilden, hingegen vollzieht sich die Zersetzung der Brenztraubensäure durch die Wirkung der auf jene äußeren Einwirkungen weniger reagierenden Carboxylase in ungestörter Weise.

Mit den durch solche Beeinflussungen zutage tretenden Unterschieden zwischen der Zymase und der Carboxylase befasse ich mich nur so weit, als sie auf Grund meiner eigenen Untersuchungen auch für die in der Zymase der Kartoffel und Zuckerrübe befindliche Carboxylase festgestellt sind.

T.

In Preßsaft oder in Macerationssaft aus Hefe verschwindet die Zymasewirkung bei Aufbewahrung des Saftes binnen 1 bis 2 Tagen; ein solcher Saft besitzt nicht mehr die Fähigkeit, eine Glucoselösung zu vergären. Wenn Neuberg einen solchen auf Glucoselösung nicht mehr reagierenden Saft auf die Brenztraubensäure einwirken ließ, so bemerkte er nahezu ebenso starke Entwicklung von CO₂ als bei dem Versuch mit frischem, noch aktive Zymase enthaltenden Safte. Diese Verschiedenheit zwischen Zymase und Carboxylase wäre nach Neuberg¹) auf das Verschwinden des Koenzyms aus dem Safte während der Aufbewahrungszeit zurückzuführen, welches Koenzym nämlich zur Tätigkeit der Zymase (oder richtiger Zymase — Carboxylase) nötig ist; die Carboxylase kann auch ohne Koenzym wirken.

Stoklasa nahm bei dem aus höheren Pflanzen dargestellten festen Rohenzym wahr, daß dieses bereits nach 14 tägiger Aufbewahrung nicht mehr auf Traubenzucker einwirkte. Es fragt sich nun, ob die während längerer Zeit aufbewahrten Rohenzyme aus Kartoffeln und Zuckerrüben imstande sind, die Brenztraubensäure zu zersetzen.

Zur Entscheidung dieser Frage wurden die Rohenzyme der Kartoffel und Zuckerrübe während 2 Wochen in sterilem Exsiccator stehen gelassen, nach welchem Zeitablauf bei der Prüfung ihrer Wirkung auf Glucose und Brenztraubensäure sich die in untenstehender Tabelle V angeführten Daten ergaben.

Aus 100 ccm Aus 100 ccm Zur Darstellung Dauer 10°/oiger Glu-10/oiger Brenz-Nr. der Enzyme benütztes des Versuches coselösung traubensäurelösung CO. CO, Pflanzenorgan Std. g g 1 2 Zuckerrübenwurzel 48 0,006 0,140 0,011 0,105 Kartoffelknolle 51 3 do. 48 0,003 0,2084 48 0,004 0,082 do.

Tabelle V.

¹⁾ C. Neuberg, diese Zeitschr. 51, 137, 1913; 61, 172, 1914.

Aus diesen Zahlen kann man ersehen, daß die Empfindlichkeit der Zymase und Carboxylase aus Kartoffeln und Zuckerrüben bei der Aufbewahrungszeit jener der entsprechenden beiden Hefenfermente ähnlich ist.

II.

C. Neuberg und N. Iwanoff¹) haben gefunden, daß Macerationssäfte nach Hinzugabe gewisser anorganischen und organischen Antiseptica, wie Natriumfluorid, Mercurichlorid, Formaldehyd, Phenol, Thymol, Rohrzucker oder Glucose nicht mehr vergärten, hingegen die Brenztraubensäure auf die für Carboxylase charakteristische Art zerlegten. Daraus folgt, daß die Carboxylase gegen gewisse Gifte weit weniger empfindlich ist als die übrigen Teilenzyme der Zymase. Somit kann man durch dieses Verfahren von Neuberg auf sehr einfache Weise die Tätigkeit der Carboxylase auch in Anwesenheit von Zucker demonstrieren.

Das Verhalten der Carboxylase aus Kartoffeln und Zuckerrüben gegenüber den antiseptischen Mitteln Natriumfluorid, Mercurichlorid und Formaldehyd ist aus nachfolgenden Angaben ersichtlich.

Nr.	Zur Darstellung der Enzyme benütztes Pflanzenorgan	g Dauer des	Aus 100 ccm 10% iger Glu- coselösung CO ₂ g	Aus 100 ccm Brenztrauben- säurelösung CO ₂ g	Konzentration der Antiseptica
1	Kartoffelknolle	60	0,623	0,211	_
2	do	60	0,006	0,109	0,05% HgCl ₂
3	do	60	0,002	0,128	1,00% NaF
4	do	60	0,004	0,096	0,50% HCOH
5	Zuckerrübenwurzel .	60	0,318	0,177	_
6	do	60	0,002	0,091	0,05% HgCl ₂
7	do	60	0,028?	0,140	1,00% NaF
8	do	60	0,003	0,102	0,50% HCOH

Tabelle VI.

III.

Wenn man Hefenmacerationssaft während 10 bis 15 Minuten in einem Wasserbad von 50 bis 51° erwärmt und die getrübte Lösung filtriert, so ist das Filtrat auf Glucose wirkungs-

¹⁾ C. Neuberg und N. Iwanoff, diese Zeitschr. 67, 1, 1914.

los, hingegen wird die Brenztraubensäure noch zersetzt. Diese Feststellung von C. Neuberg und P. Rosenthal beweist die bedeutend geringere Wärmeempfindlichkeit der Carboxylase im Vergleich zu den übrigen Zymaseenzymen.

Zur Prüfung der Frage, inwieweit die Carboxylase der Kartoffeln und Zuckerrüben ein ähnliches Verhalten zeigt, wurde der ausgepreßte Saft der Kartoffelknollen und der Zuckerrübenwurzel während 15 Minuten in einem Wasserbade von 51° erwärmt und das Rohenzym aus der filtrierten Flüssigkeit mittels des bereits bekannten Verfahrens dargestellt und seine Wirkung auf Glucose und Brenztraubensäure geprüft.

Nr.	Zur Darstellung der Enzyme benütztes Pflanzenorgan	Dauer des Versuches	Aus 100 ccm 10°/oiger Glu- coselösung CO ₃	Aus 100 com 1º/oiger Brenz- traubensäure- lösung CO ₂
		Std.	g	g
1	Zuckerrübenwurzel .	48	0,008	0,242
2	Kartoffelknolle	4 8	0,007	0,196
3		48	0,004	0.198

Tabelle VII.

Die Ergebnisse lehren, daß auch die Carboxylase der Kartoffeln und Zuckerrüben gegenüber der Temperaturerhöhung weit weniger empfindlich ist als die übrigen Zymaseenzyme dieser höheren Pflanzen.

Zusammenfassung.

- 1. Aus dem Reservestoffbehälter der Kartoffeln und Zuckerrüben kann Zymase in Pulverform in aktivem Zustand isoliert werden; die Wahrnehmungen Stoklasas über Pflanzenzymase finden durch meine eigenen Untersuchungen eine Bestätigung.
- 2. Wenn auch in einigen Fällen Bakterien in gärender Flüssigkeit vorkommen, so haben diese nicht die Fähigkeit, Traubenzucker auf die für die alkoholische Gärung charakteristische Weise zu zersetzen.
- 3. Das Rohenzym der an Ringkrankheit leidenden Kartoffelknollen wirkt derart auf die Glucose ein, daß es gar keinen Alkohol oder höchstens nur Spuren davon bildet. Statt Alkohol konnten größere Mengen Essigsäure nachgewiesen werden. Diese Blochemische Zeitschrift Band 78.

Essigsäure entstand aus Alkohol durch die Wirkung der Alkoholoxydase der Bodenbakterien. Die Bodenbakterien gelangten aus den kranken Knollen in Form von Sporen in das Rohenzym.

- 4. Die Wirkung des aus rübenschwanzfaulen Zuckerrübenwurzeln gewonnenen Rohenzyms bestand darin, daß sich Alkohol und Kohlensäure in viel kleinerem Verhältnisse bildete als bei der alkoholischen Gärung. Die Ursache dieses Verhaltens blieb ungelöst.
- 5. Auch in der Zymase der Kartoffelknollen und Zuckerrübenwurzel ist die Anwesenheit der Neubergschen Carboxylase festgestellt worden.
- 6. Es ist gelungen, wie aus Hefe, auch aus den beiden höheren Pflanzenteilen Zymasepräparate darzustellen, die nur auf Brenztraubensäure wirkten, während sie Glucoselösung unverändert ließen.
- 7. Hinsichtlich der Aufbewahrungszeit und gegen verschiedene Antiseptica ist die Carboxylase der Kartoffeln und Zuckerrüben viel weniger empfindlich als die Gesamtzymase dieser Pflanzen; die Verhältnisse entsprechen ganz Neubergs Befunden mit den Hefenfermenten.

Die Verteilung und das Schicksal des kolloiden Silbers im Säugetierkörper. IV.

Von

J. Voigt, Göttingen.

(Zurzeit Stabsarzt bei der Kriegslazarettabteilung 53 im Felde.)

(Eingegangen am 27. November 1915.)

Der II. und III. Teil dieser Untersuchungen beschäftigten sich mit den Verhältnissen, die wir, mehr oder weniger deutlich zutage tretend, nach der intravenösen Einverleibung eines geschützten Silberhydrosols im Säugetierkörper finden. therapeutische Zwecke wird dieses Verfahren wohl immer noch das beste sein. Da aber die intramuskuläre Injektion von bestimmten Präparaten in der Literatur empfohlen wird und dieses Verfahren von manchen Ärzten der einfacheren Technik wegen bevorzugt werden dürfte, so erscheint es wünschenswert, die Verteilung des Silbers auch bei dieser Anwendungsform in einigen Tierversuchen zu studieren. Schon um der Vollständigkeit willen mußten dann die Verhältnisse nach der intraperitonealen Anwendung eines Silberhydrosols mit in den Kreis der Untersuchungen gezogen werden, ganz abgesehen davon, daß auch ein solches Verfahren zu therapeutischen Zwecken empfohlen Das meinen Untersuchungen diesmal zugrunde liegende Material ist allerdings klein; es beträgt für jede Anwendungsform nur zwei Tierversuche. Die davon stammenden mikroskopischen Präparate sind aber noch in Friedenszeiten und neuerdings bei Gelegenheit eines kurzen Urlaubes genau untersucht worden. Ob und wann es mir möglich sein wird, diese Untersuchungen weiter fortzuführen, ist ja in dieser Zeit gar nicht abzusehen. So habe ich mich denn entschlossen, diese Beobachtungen schon jetzt zu veröffentlichen, um der vor

4 Jahren begonnenen Arbeit einen vorläufigen Abschluß zu geben, hoffentlich ohne mir den Vorwurf der Voreiligkeit zuzuziehen.

Zu den beiden ersten Versuchen ist folgendes zu bemerken. Es war beabsichtigt, durch eine Reihe verschieden angelegter Versuche nicht nur das Schicksal des kolloiden Silbers nach intramuskulärer Injektion, sondern auch etwaige Verschiedenheiten der für diese Zwecke angegebenen Hydrosole zu studieren; so ist denn den beiden Versuchstieren ein verschiedenes Präparat injiziert worden. Nach meinen bisherigen Erfahrungen (cf. III. Teil!) bedingt dieser Umstand jedoch keine prinzipiellen Verschiedenheiten in den Befunden. Aber selbst wenn die Ursache für solche in der Natur der injizierten Hydrosole bedingt sein sollte, würde das für die uns beschäftigende Frage von geringer Bedeutung sein, weil — — — dann die verschiedenen Befunde nicht notwendig verschiedene Stadien ein und desselben Prozesses darstellen würden.

I. Tierversuch. Ein kleines, etwa 1 kg schweres, schwarzes Kaninchen erhielt am 3. VI. 12. 10 ccm stabilisiertes, isotonisches Elektrargol ziemlich tief in die linke Keule injiziert. Nach 24 Stunden, in denen das Tier keinerlei Störungen des Allgemeinbefindens zeigte, wurde es durch Ausbluten getötet. Bei der Sektion fand man in der Umgebung der Injektionsstelle ein sulziges Ödem von graubrauner Färbung, das sich, wohl infolge des zur Injektion nötigen Druckes, in den Muskelinterstitien ins Becken hinein und weiter retroperitoneal fast bis zur Teilungsstelle der Aorta hin erstreckte. Beim Herausnehmen der Oberschenkelmuskulatur fand man diese an einer etwa fünfpfennigstückgroßen Stelle, offenbar der Injektionsstelle entsprechend, an der Oberfläche diffus bräunlich verfärbt: weiterhin erkannte man auf der Muskulatur in den einzelnen Zwischenräumen im Perimysium Niederschläge von schokoladenbrauner An den Organen der Brust- und Bauchhöhle waren makroskopisch keinerlei Veränderungen zu erkennen. Mesenterialdrüse sowie ein mit den Lungen zusammen entferntes drüsiges Gebilde zeigten auf dem Durchschnitt Stellen von einer eigentümlich grauen Färbung. Das Knochenmark war dunkelrot gefärbt, wie normal.

Die Leberschnitte zeigen bei der Betrachtung im durch-

fallenden Licht mit schwacher Vergrößerung insofern eine Abweichung vom Normalen, als sie ganz ungewöhnlich weite Gefäßlumina aufweisen. Außerdem findet man hier und da in der nächsten Nachbarschaft der interlobulären Gefäße eigentümliche, gelblichbraun durchscheinende Massen, die nach ihrer Lage im Gewebe und ihrer rundlichen Begrenzung zu urteilen, die Lumina von Lymphbahnen ausfüllen. Auch fällt ein starkwandiges Gefäß auf, dessen Lumen im Zentrum mit einkernigen Zellen, nach der Peripherie zu mit eigentümlich braungrauen, körnigen Massen locker angefüllt ist. Außerdem kann man bei starker Vergrößerung auch in diesem Präparat die schon mehrfach beschriebenen kleinen, bräunlich durchscheinenden Körnchen über die Leberzellen verstreut sehen. Wenn auch auf den ersten Blick alle Leberzellen solche zu enthalten scheinen, finden sich doch bei genauer Betrachtung in den einzelnen Kolonnen immer einige, die diese Körnchen nicht aufweisen. Diese Beobachtung sei zunächst hier nur notiert, und es sei darauf hingewiesen, daß sie vielleicht von Bedeutung sein kann für die Entscheidung, ob diese Teilchen tatsächlich in den Leberzellen oder auf ihrer Oberfläche abgelagert sind. muß ferner hervorgehoben werden, daß im Gegensatz zu den bisher untersuchten Lebern in diesem Präparate an einzelnen Stellen Leukocyten im Lebergewebe zu beobachten waren, die teilweise in den Zwischenräumen zwischen den Kolumnen der Leberzellen, besonders häufig aber in der Umgebung der interlobulären Gefäße sich finden. Bei der Betrachtung dieser Präparate im Dunkelfelde gewahrt man die eben beschriebenen Körnchen, wie auch in einer Reihe der früheren Versuche, als grauweiß schimmernde Punkte. Auffallend war aber die Tatsache, daß sie nach der Behandlung mit Kalilauge ihren Charakter in der Weise ändern, daß sie statt des mattweißen einen schwach goldroten Schein geben, der sich kaum von dem der mit Hämatoxylin gefärbten Zellkerne unterscheidet; die Behandlung mit ¹/₂ ⁰/₀iger Cyankalilösung wirkt ebenso. Das gleiche Verhalten zeigen die oben beschriebenen größeren Ansammlungen braun durchschimmernder Teilchen. Es ist zurzeit nicht möglich, für dieses merkwürdige Verhalten eine Erklärung zu geben, besonders da diese Körner nicht durch die erwähnten Reagenzien gelöst oder merkbar verändert werden. Der von den übrigen

Versuchen abweichende Befund von ungewöhnlich weiten Gefäßen und Leukocyten — im Gegensatz zum 2. Versuchstiere — läßt auch an die Möglichkeit einer bereits vorhandenen Lebererkrankung als Ursache hierfür denken.

In den Lungenschnitten kann man bei der Untersuchung im durchfallenden Licht keine Abweichungen vom Normalen, besonders keine Niederschläge erkennen. Bei der Betrachtung im Dunkelfeld findet man in der Alveolarwand hier und da Ansammlungen allerfeinster Teilchen, die ein silberweißes Licht ausstrahlen. Die rundliche Form dieser Häufchen legt die Vermutung nahe, daß sie sich innerhalb von Zellen befinden. Stellt man dieselben ein und untersucht sie im durchfallenden Licht mit stärkster Vergrößerung, so sieht man an diesen Stellen rundliche Zellen mit einem runden Kern liegen, in deren Protoplasma man nun ganz feine Pünktchen gewahrt.

Die Nierenpräparate dieses Versuchstieres lassen im durchfallenden Lichte keine nennenswerten Veränderungen gegenüber denen von der nicht mit Silber behandelten Tiere er-Das Protoplasma der Epithelien der Harnkanälchen ist an einzelnen Stellen etwas stärker granuliert als sonst, gröbere Niederschläge sind aber nirgends zu sehen. Hier und da erkennt man zwischen den Harnkanälchen einzelne kleine rundliche Häufchen von feinen schwarzen Pünktchen, die anscheinend in Zellen eingeschlossen sind. Bei Anwendung des Paraboloidkondensors findet man, daß diese ein schwach silberglänzendes Licht aussenden, sonst sind auch mit dieser Methode keine stärkeren Silberablagerungen zu erkennen. Es sei noch notiert, daß das Protoplasma der Harnkanälchenepithelien vielfach ein ganz schwaches Licht gibt, doch ist dieser Schein so schwach, daß er nicht mit Sicherheit auf Imprägnierung mit Silberteilchen zurückgeführt werden kann. Die Prüfung dieser Schnitte mit Kalilauge und Cyankalium gibt nicht durchweg eindeutige Resultate. Es fehlen zwar in den mit 1/00/0 iger Cyankalilösung behandelten Schnitten die lichtbeugenden Niederschläge zwischen den Harnkanälchen, das Protoplasma der Epithelien einzelner Harnkanälchen erscheint anderen gegenüber auch nach der Einwirkung der Cyankalilösung immer noch etwas heller schimmernd.

In den Nebennierenschnitten ist im durchfallenden Lichte, auch bei starker Vergrößerung, nichts Besonderes zu erkennen. Bei Anwendung von Dunkelfeldbeleuchtung gewahrt man in der Rindensubstanz zerstreut rundliche Gebilde, von denen ein mattsilberner Schein ausgeht. Es gelingt mit Hilfe der Immersion, diese schimmernden Fleckchen in Haufen allerfeinster, glänzender Pünktchen aufzulösen. Diese Ansammlungen leuchtender Teilchen entsprechen, wie die vergleichende Beobachtung im durchfallenden Lichte lehrt, den Zellkernen, auf denen man, durch Dunkelfelduntersuchung aufmerksam gemacht, jetzt eine ganz feine, körnige Trübung erkennen kann. Es ist bemerkenswert, daß keineswegs alle Zellkerne der Rindensubstanz das Licht abbeugen; nach der Marksubstanz hin sehr selten, nehmen sie nach der Oberfläche des Organs hin an Häufigkeit zu, doch erkennt man auch hier zwischen ihnen zahlreiche Kerne, die nur den schwach dunkelkupferfarbenen Glanz der Hämatoxylinfärbung geben. Dies ist vielleicht dadurch bedingt, daß die Silberteilchen nur auf der Oberfläche der Zellkerne abgelagert sind, und daß deshalb nur von den Kernen Licht abgebeugt wird, die nicht durch den Schnitt selber zerlegt sind, sondern ihre unversehrte Oberfläche dem Auge zukehren.

Die mesenteriale Lymphdrüse enthält, besonders reichlich in den zentralen Partien, teils regellos nebeneinanderliegend, teils zu rundlichen Häufehen angeordnet, feine, bräunlich durchscheinende Niederschläge. An einzelnen Stellen der letzteren kann man zwischen den braunen Teilchen den Zellkern erkennen und ist deshalb berechtigt, dieses als intracelluläre Einschlüsse zu betrachten. Bei Dunkelfeldbeleuchtung geht von diesen Niederschlägen, wie zu erwarten war, ein silberweißes Licht aus; auch die intracellulären Ansammlungen geben den gleichen Schimmer und haben nicht, wie sonst häufig, eine mehr gelbliche Färbung. Sie verschwinden alle auf Zusatz von $^{1}/_{2}^{0}/_{0}$ iger Cyankalilösung.

Das mit den Lungen zusammen entfernte Gebilde ist, wie die mikroskopische Untersuchung zeigt, die Thymus. Sie enthält, ähnlich wie die eben beschriebene Lymphdrüse, zahlreiche, bald rundliche, bald längliche Ansammlungen feiner, braun durchscheinender Körnchen. Besondere Abweichungen von der

Norm sind sonst nicht zu konstatieren. Im Dunkelfeld geben alle diese Niederschläge, zu denen sich noch viele, vorher nicht wahrnehmbare gesellen, einen mattsilbernen Glanz. Auffallend ist jedoch, daß bei Anwendung des Paraboloidkondensors die Form der Niederschläge weit deutlicher zu erkennen ist; sowohl die rundlich erscheinenden, wie auch die anderen Ablagerungen haben im Dunkelfeld die Gestalt, die wir bei den mit Silber imprägnierten Sternzellen zu finden gewohnt sind. Es ist mir nicht bekannt und bedarf vielleicht einer besonderen Untersuchung mit sehr dünnen Schnitten, um festzustellen, ob es sich hierbei um zufällige Formen handelt, oder ob auch in der Thymus Zellen von ähnlicher Gestalt und Funktion, wie die Sternzellen in der Leber, enthalten sind.

In den Muskelschnitten von der Injektionsstelle ist die Hauptmenge des Silbers auf dem lockeren Bindegewebe und dem die einzelnen Muskelbündel in nächster Nähe des Einschnittes voneinander trennenden Perimvsium abgelagert: wenigstens erkennt man bei durchfallendem Lichte nur hier braune feinkörnige Niederschläge. Hier finden sich zahlreiche Leukocyten, in denen jedoch keinerlei Ablagerungen erkennbar sind. Bei der Untersuchung im Dunkelfeld gewahrt man neben den bereits beschriebenen großen Niederschlägen weiter in der Tiefe des Muskels Stellen, von denen ein blaßbläulich-silberner Schein Es handelt sich auch hier um Muskelinterstitien, die von lockerem Bindegewebe ausgefüllt sind, scheinend in seiner ganzen Ausdehnung mit den allerfeinsten Teilchen imprägniert ist. Ein direktes Hineingepreßtwerden durch die Injektion bis an diese Stelle ist mit Sicherheit auszuschließen, denn es handelt sich hierbei erstens um ganz außerordentlich feine Niederschläge, die selbst mit stärkster Vergrößerung nicht in Teilchen aufgelöst werden können, während in der nächsten Umgebung der Injektionsstelle sich wesentlich gröbere Ablagerungen finden; zweitens aber ist auch bei Untersuchung der aufeinanderfolgenden Schnitte niemals ein direkter Zusammenhang dieser Stellen mit den großen Niederschlägen der Injektionsstellen zu konstatieren. Bei den in den Muskeln selber gefundenen gröberen Niederschlägen ist ein Transport durch die Klinge des Mikrotoms von der Injektionsstelle her niemals mit Sicherheit auszuschließen, auch sind diese Ablagerungen zu unregelmäßig verteilt, als daß sie eine Bedeutung für die Erkenntnis der Anordnung der Silberniederschläge haben könnten.

II. Tierversuch. Ein weibliches Kaninchen von etwa 3500 g Gewicht erhielt von der bekannten 0,660/eigen Kollargollösung am 20. VII. 5 ccm in die linke Keule intramuskulär injiziert, am 22. dasselbe Quantum rechts, am 24. wieder links, am 26. rechts und am 29. unter das linke Schulterblatt. Das Befinden des Tieres war unverändert, das Gewicht gleich geblieben. Irgendwelche Reizerscheinungen an den Injektionsstellen waren nicht zu beobachten, das Tier lief ganz munter und ohne Behinderung umher. Der Urin, der an den einzelnen Tagen aufgefangen war, enthielt niemals Eiweiß. Nach der letzten Injektion wurde das Tier 8 Tage im Stall gelassen, und dann, nachdem zuvor sein Gewicht bestimmt worden war (3565 g), durch Nackenschlag getötet und gleich entblutet. Bei der Sektion fand sich die gleiche starke Fettentwickelung wie bei Versuch 5 (III. Teil). Die Leber war von normaler Konsistenz, ihre Farbe war dunkelbraunrot und wich nur wenig von der gewöhnlichen ab; die Milz war etwa 5 cm lang, von blauroter Farbe und weicher Konsistenz. Äußerlich sahen die Nieren ganz normal aus, auf dem Durchschnitt fand man die gleiche Teilung wie beim vorigen Tiere, jedoch schwächer ausgeprägt. Die Nebennieren hatten wieder eine auffallend gelbe Farbe der Marksubstanz; bei längerem Stehen an der Luft nahm die ganze Schnittfläche diese Färbung an. Die Lungen waren von normaler Färbung und gut lufthaltig, irgendwelche Schwarzfärbung war makroskopisch nicht zu erkennen. Das Knochenmark hatte seine gewöhnliche Farbe, das Gehirn ließ ebenfalls keine Abweichung vom Normalen erkennen. An den sämtlichen 5 Injektionsstellen fand man ausgedehnte Braunfärbung des intermuskulären Bindegewebes. Es war auffallend, daß diese braune Farbe sich nicht nur zwischen die Oberschenkelmuskulatur bis auf den Knochen hin, sondern auch aufwärts fast bis zum kleinen Becken verfolgen ließ. Der Muskel selber schien nicht verfärbt, außer an einer Stelle, wo er selbst vom Stich getroffen war. Zur Untersuchung wurden Gewebsteile aus Leber, Lunge, Niere, Nebenniere, Milz und verschiedenen Muskeln entnommen, die, näher oder ferner von der Injektionsstelle, den eigentümlich

braunen Überzug zeigten. Außerdem wurde eine auffallend große Leistenlymphdrüse entfernt und mit den anderen Präparaten zusammen nach der üblichen Vorbereitung mikroskopisch untersucht.

Die bei der Betrachtung der Leberschnitte mit schwacher Vergrößerung gewonnenen Bilder weichen von denen der Leber eines nicht vorbehandelten Tieres nicht ab, Kerne sind gut färbbar, die Leberzellen nicht irgendwie pathologisch verändert, auch nicht in ihrem Zusammenhang gelockert. Irgendwelche stärkeren Niederschläge fehlen, besonders ist eine Hervorhebung der Sternzellen durch dunklere Färbung der Kerne oder gar durch Niederschläge nirgends zu beobachten. Bei Anwendung stärkerer Vergrößerungen erkennt man, über das Lebergewebe hin verstreut, feine, meist rundlich erscheinende, gelblich durchschimmernde Körnchen, doch kann man sich keine Vorstellung von einer Anordnung im Lebergewebe machen. bestimmten schwer zu entscheiden, ob die Sternzellen von diesen Pünktchen vollständig frei sind, jedoch sind sie keinesfalls irgendwie bevorzugt. Bei Anwendung des Paraboloidkondensors sieht man schon mit schwächster Vergrößerung die Struktur des Lebergewebes deutlich auf dem schwarzen Hintergrunde durch grauweißlich schimmernde Massen angedeutet. Eine irgendwie nennenswerte Beteiligung der Sternzellen kann man schon hier mit Sicherheit ausschließen. Bei mittlerer und starker Vergrößerung erkennt man ganz deutlich, wie auf einem schwarzen Samt mit Perlen gestickt, ein genaues Abbild der Struktur des Lebergewebes. Die blaß silbergrau schimmernden, gleichgroßen Teilchen sind stets an die Leberzellen gebunden, doch scheinen sie nicht die Zellen selber auszufüllen, sondern, wenn nicht stets, so doch vorzugsweise, an der Oberfläche der hier normalerweise sich findenden Körnchen zu haften. Diese verlieren ihr Leuchten in 1/2 0/0 iger Cyankalilösung, werden aber selber nicht gelöst. Ob außerdem feinste Gefäßbahnen damit ausgekleidet sind, ist schwer zu entscheiden; die Tatsache, daß diese Teilchen nicht selten als schmaler Streifen über die Zelle hinziehen, würde dafür sprechen. So findet man denn auch sehr häufig eine Anordnung der Teilchen zu einer Art Netzwerk, in dessen Maschen das Protoplasma oder der Kern der Leberzellen zu liegen scheint. Außerdem kann man in allen Schnitten deutlich erkennen, daß die matt leuchtenden Pünktchen in der Weise im Gewebe verteilt sind, daß sie am zahlreichsten in den peripheren Teilen der Lobuli zu finden sind und nach dem Zentrum zu an Zahl und Helligkeit abnehmen.

Die Lungenschnitte ließen im durchfallenden Lichte nur ganz vereinzelt kleine, unregelmäßig gestaltete, schwarze Niederschläge erkennen, die zudem häufig den Eindruck von Verunreinigungen machten. Nur an wenigen Punkten konnte man kleine schwarze Ablagerungen finden, die wohl mit dem injizierten Silber in Verbindung gebracht werden dürften (Lymphbahnen?). Es handelt sich hier um meist in Reihen angeordnete feinste Pünktchen, von denen nicht mit Sicherheit zu entscheiden ist, ob sie innerhalb von Leukocyten liegen oder nicht. Auch das Bild, das man bei Anwendung des Paraboloidkondensors erhält, unterscheidet sich kaum von dem einer normalen Lunge. Die wenigen oben erwähnten Punkte strahlen zwar ein ziemlich helles Licht aus, doch sind sie viel zu vereinzelt, um für die uns interessierende Frage mehr Bedeutung zu haben als die von Nebenbefunden.

Die Nierenpräparate lassen bei schwacher Vergrößerung keine Abweichungen vom normalen Befunde erkennen. stärkerer Vergrößerung scheint das Protoplasma des Epithels einzelner Harnkanälchen etwas stärker getrübt wie normal; diese Trübung tritt in zwei verschiedenen Formen auf. In den meisten Fällen handelt es sich um eine eigentümlich streifige Zeichnung, die von der Basis der Zellen zum freien Rande hin verläuft, wie sie schon von anderer Seite bei Vitalfärbung beobachtet worden ist. An anderen Stellen scheint die Trübung durch kleine rundliche Teilchen bedingt zu sein. schwarze oder braune Niederschläge sind nirgends zu sehen, nur hier und da erblickt man im Zwischenraum zwischen den Harnkanälchen eine gelblich durchschimmernde amorphe Masse, in der keine Einzelheiten zu erkennen sind. Im Dunkelfeld erscheinen die Epithelien der meisten Harnkanälchen leer; man sieht nur die mit Hämatoxylin gefärbten Kerne dunkelkupferfarbig schimmern. An den Stellen, wo die zuerst beschriebene streifenartige Trübung im Protoplasma des Epithels beobachtet wird, finden wir einen eigentümlichen, matt blauweißen Schimmer von diesen Epithelien ausgehen. Dieser mattsilberne Schimmer

ist so stark, daß viele der im durchfallenden Licht gut sichtbaren Zellkerne von ihm überstrahlt werden. Die Stellen, wo im durchfallenden Lichte die Trübung des Epithels durch kleine Körnchen bedingt schien, sind im Dunkelfeld als heller leuchtende, silberweiße Pünktchen deutlich zu erkennen. An der Außenseite der Harnkanälchen kann man hier und da, wie im Versuch 5 (III. Teil) fast durchweg, etwas größere Teilchen finden, doch ist ihre Zahl im Vergleich zu den in jenem Versuch beobachteten verschwindend klein. Die hier und da in den Zwischenräumen zwischen den Harnkanälchen beobachteten Ansammlungen von braun gefärbten amorphen Massen enthalten lichtbeugende Teilchen, doch bestehen sie keineswegs ausschließlich aus solchen, sondern es scheint sich zum Teil dabei um zerstörte Blutkörperchen zu handeln. Die beobachteten Teilchenansammlungen sind ziemlich von gleicher Größe und scheinen in Zellen eingeschlossen zu sein. Außerdem kann man stellenweise auch in den Zwischenräumen zwischen den Harnkanälchen derartige Ansammlungen lichtbeugender Teilchen ohne die bereits erwähnten Gruppen von braunen Massen sehen, die am einfachsten durch die Annahme erklärt werden, daß es sich um Leukocyten handelt, die mit Silberteilchen beladen sind. An einigen Stellen kann man Bilder beobachten, die ziemlich genau denen entsprechen, die wir bereits bei dem Versuch 5 (III. Teil) gesehen haben, wo die Membrana propria der Harnkanälchen ein bläulichweißes Licht ausstrahlte. Es ist in diesen Schnitten das hier ausgehende Licht nicht so intensiv wie bei den früheren Versuchen. immerhin doch deutlich genug, um ohne weiteres bemerkbar zu sein. Die Glomeruli enthalten, wie ja bei der intramuskulären Injektion auch zu erwarten war, keinerlei Niederschläge. Man kann nach den bei diesem Präparat erhobenen Befunden sagen, daß es eine Mittelstellung zwischen den Nieren der Versuche 4 und 5 einnimmt, indem sowohl die Propria wie auch die Epithelien einzelner Harnkanälchen selber lichtbeugende Silberteilchen enthalten; wenn auch weder die eine oder andere Form derartig ausgeprägt ist, wie in den oben erwähnten Versuchen.

In den Nebennieren ist weder bei gewöhnlicher Beleuchtung noch im Dunkelfeld etwas von Silberniederschlägen zu erblicken.

Die Milz zeigt im durchfallenden Lichte eine regellose Menge von kleineren und größeren scholligen, braun durchscheinenden Gebilden. Die in den früheren Präparaten beobachtete kreisförmige Anordnung um die Follikel kommt hier nicht zum Ausdruck. Es sei außerdem notiert, daß die Kernfärbung in diesen Schnitten durchweg eine ziemlich mangelhafte ist; ob das auf einen Fehler in der Vorbehandlung des Präparates zurückzuführen oder durch die Silberinjektionen bedingt ist, kann nicht entschieden werden. Betrachtung im Dunkelfeld erstrahlen die grobscholligen Niederschläge in leuchtend goldrotem Lichte; außerdem finden sich Ansammlungen von locker nebeneinander liegenden allerkleinsten Teilchen, die ein bläulich-silbernes Licht ausstrahlen. Der Zwischenraum zwischen diesen größeren leuchtenden Flecken wird ausgefüllt durch eine Menge allerfeinster, weit verstreuter, leuchtender Pünktchen. Es kommt mit Hilfe dieser wieder die bereits früher beschriebene Anordnung zum Ausdruck, nach der die Follikel fast vollständig von leuchtenden Teilchen frei sind, umgeben von der Masse der größeren und kleineren leuchtenden Niederschläge; sie verschwinden alle auf Zusatz von $^{1}/_{2}$ $^{0}/_{0}$ iger Cyankalilösung.

Die große Leistendrüse zeigt in den mikroskopischen Schnitten bei durchfallendem Lichte einzelne gelbbraune, körnige Ablagerungen. Bei starker Vergrößerung erkennt man, daß diese Ablagerungen fast ausnahmslos in Gefäßbahnen zu finden sind, wo sie manchmal in Zellen eingeschlossen zu sein, nicht selten aber auch die Gefäßwand zu bekleiden scheinen. finden sich, außerhalb der größeren Gefäßbahnen liegend, im Gewebe verstreut deutliche Ablagerungen von bräunlicher Farbe, die anscheinend durchweg an Leukocyten gebunden sind. Es erscheint hierbei beachtenswert, daß die verschiedenen Abschnitte des Lymphknotens ganz beträchtliche Verschiedenheiten aufweisen; so finden sich z. B. diese Ablagerungen im allgemeinen außerhalb der Gefäßbahnen ziemlich selten, an einer Stelle jedoch, zu beiden Seiten von einem Bindegewebsstreifen, nimmt man eine beträchtliche Menge dieser Zellen wahr; von einer Gefäßbahn ist aber hier nichts zu sehen. Bei der Untersuchung im Dunkelfeld gewahrt man die in den Gefäßspalten liegenden, mit Teilchen beladenen Leukocyten als Ansammlungen von

ziemlich stark lichtbeugenden Teilchen, deren Umrisse ziemlich genau den Zellkonturen, wie man sie im durchfallenden Licht erkennt, entsprechen. Bei starker Vergrößerung bemerkt man, daß die Wände der Spalträume fast durchweg mit Zellen besetzt sind, die ziemlich stark lichtbeugende Teilchen im Innern enthalten: man findet außerdem in der Masse der Rundzellen kleine Gruppen von leuchtenden Zellen, wie die eben beschriebenen sind; auch sie erscheinen häufig so angeordnet, als ob sie ein Lumen umgäben, doch ist eine Wand nicht mit Deutlichkeit zu erkennen. Erwähnt sei schließlich noch, daß man bei stärkster Vergrößerung in einer Reihe von Leukocyten den Kern einen schwach silbernen Schein aussenden sieht. ähnlich wie bereits bei anderen Präparaten beschrieben, der anscheinend auf Ablagerungen allerfeinster Silberteilchen zurückzuführen ist. Die Entscheidung über die Bedeutung dieses letzten Befundes muß dem Ergebnis besonderer Untersuchungen überlassen werden.

Die sämtlichen Muskelpräparate stimmen darin überein, daß sowohl bei schwacher wie starker Vergrößerung der Niederschlag fast ausschließlich auf dem Perimysium zu sehen ist. Doch wo bei der Injektion das Silber in die Muskulatur direkt hineingepreßt worden ist, hat es sich in den Gewebsspalten weiter bewegt und ist offenbar dort an Ort und Stelle ausgeflockt. Bei schwacher Vergrößerung sieht man das mit Silberteilchen beladene Perimysium als einen bald mehr schwarzen, bald braun durchschimmernden Streifen über die Muskelfasern hinziehen. Diese schwarzen oder braunen Niederschläge erstrecken sich in den meisten Fällen nicht zwischen die einzelnen Muskelfasern hinein, sondern bleiben auf der Oberfläche des Bündels selber liegen. Dieser Befund spricht dafür, daß das Silber sofort, nachdem es mit dem Perimysium in Berührung gekommen ist, ausflockte. Es ist auffallend, daß an diesen Stellen in keinem der verschiedenen Muskelpräparate Leukocyten gefunden wurden. An den Stellen dagegen, wo die Injektion in den Muskel selber hinein erfolgte, bildet der Silberniederschlag nicht einen ziemlich gleichbreiten Streifen, sondern erstreckt sich, den dünnen Bindegewebsschichten folgend, zwischen die einzelnen Muskelfasern hinein. Diese Stellen sind umgeben von einer Menge in der näheren Umgebung sich ansammelnden Leukocyten. Ob

Silberteilchen weit hinein zwischen die Muskelfasern gelangt sind, ist im durchfallenden Lichte nicht zu entscheiden. Größere Ansammlungen von Silberteilchen kann man jedenfalls in einiger Entfernung von der Injektionsstelle nicht mehr beobachten. Die Leukocyten, die in der Umgebung und zwischen den Niederschlägen sichtbar sind, scheinen, soweit man mit starker Vergrößerung in durchfallendem Lichte erkennen kann, niemals Silberteilchen zu enthalten. An den Stellen, wo die Injektion zwischen die Muskeln selber in das Bindegewebe erfolgt ist, sieht man im Dunkelfeld die Niederschläge als einen gleichmäßig, ziemlich breiten, silbrig bis goldig schimmernden Streifen sich deutlich gegen die dunkle Umgebung abheben. Das von hier ausgestrahlte Licht ist, je nachdem die Teilchen mehr oder weniger dicht aneinander liegen, silberweiß, gelblich, an einzelnen Stellen leuchtend goldrot. Außerdem erkennt man zwischen den einzelnen Muskelfibrillen ganz feine, silberhell leuchtende Teilchen in Gruppen von 3 bis 8, selten mehr, in einer Reihe angeordnet. Es erscheint beachtenswert, daß an diesen Stellen niemals Leukocyten beobachtet werden konnten, sondern daß die Teilchen anscheinend frei in den Gewebsspalten lagen. Ganz anders ist das Bild, das sich an den Schnitten von einer Injektionsstelle in dem Muskel selbst bietet. Es ist leider nicht notiert, wie lange Zeit verstrichen ist nach der Injektion des Kollargols an dieser Stelle, weil diesem Punkt zunächst keine Bedeutung beigemessen war. Wir finden hier das Perimysium in seiner ganzen Ausdehnung reich mit stark lichtbeugenden Teilchen beladen, doch ist hier die Ansammlung nicht eine so dichte, daß das von ihnen gebeugte Licht den rotgoldenen Glanz hätte, sondern es schimmert mehr rein goldgelb. Von hier lassen sich, dem Verlaufe des lockeren Bindegewebes zwischen die einzelnen Muskelfasern folgend, vielgestaltige, silberglänzende Ausläufer der Niederschläge ziemlich weit in das Muskelgewebe hinein nachweisen. Das von ihnen abgebeugte Licht geht, je weiter vom Perimysium die Niederschläge entfernt sind, in einen silbernen bis bläulich-weißen Glanz über. Die vorher beschriebene Art der Ablagerung feinster Teilchen zwischen den einzelnen Muskelfasern findet sich hier nur selten, dagegen erscheinen einige größere Zwischenräume mit feinsten silberglänzenden Teilchen angefüllt. Es ist höchst auffallend, daß die in diesen Schnitten so sehr zahlreichen Leukocyten niemals irgendwelche nennenswerte Silberniederschläge enthalten. Da nicht anzunehmen ist, daß die Leukocyten, die doch offenbar durch den Reiz des injizierten Silbers angelockt worden sind, nicht eifrig diese Teilchen in sich aufnehmen sollten, so muß mit diesen nach der Aufnahme in den Zelleib eine Veränderung vor sich gehen, welche die Teilchen ihrer Fähigkeit, das Licht abzubeugen, beraubt. Diese Veränderung kann nur eine chemische sein! Weshalb gerade hier die Leukocyten in dieser Weise die Silberteilchen verändern, während sie oft an anderen Stellen mit ihnen beladen sind, ist nicht zu erkennen. Man müßte natürlich für eine derartige Umwandlung des von den Leukocyten aufgenommenen Silbers verlangen, daß einzelne Zwischenstufen erkennbar wären, wo, wenn auch ganz wenige, Silberteilchen zu sehen sein müßten. Es befinden sich auch in unseren Schnitten derartige Leukocyten, doch sind die in ihnen erkennbaren Teilchen durchweg sehr klein und das von ihnen ausgehende Licht ist ziemlich schwach und hat eine bläulichweiße Färbung. In diesen Leukocyten scheinen die Silberteilchen nicht frei im Protoplasma zu liegen, sondern auf der Oberfläche des Kerns zu haften. Wenigstens sieht man niemals den Kern von einer dem Protoplasma entsprechenden leuchtenden Zone umgeben, sondern der mit Hämatoxylin gefärbte, dunkelkupferfarbig schimmernde Kern ist mit allerfeinsten Teilchen bedeckt. Es gelingt im durchfallenden Licht selbst mit der Immersion nicht, in den vorher im Dunkelfeld eingestellten Leukocyten die Teilchen zu erkennen, welche im Dunkelfeld das Licht, wenn auch schwach, doch deutlich abbeugen. ist damit der Beweis für ihre außerordentliche Kleinheit und damit zugleich für die Überlegenheit der Dunkelfeldbeoachtung der gewöhnlichen Untersuchungsmethode gegenüber erbracht.

Aus den oben mitgeteilten Befunden geht zunächst hervor, daß sehr stark geschütztes kolloidales Silber an der Injektionsstelle im Muskel ausslockt und dort noch nach geraumer Zeit makroskopisch nachzuweisen ist. In welcher Form es in die inneren Organe gelangt, ist nicht ohne weiteres zu entscheiden. Beachtenswert erscheint jedenfalls die Tatsache, daß in den Leukocyten in der Umgebung der Injektionsstelle auch im Dunkelfelde keine Silberteilchen nachzuweisen sind. Das Vor-

kommen zahlreicher Leukocyten an diesen Stellen sowie der Umstand, daß man in den weiter davon entfernt gefundenen Silberteilchen feststellen konnte, läßt vermuten, daß Aufnahme in die Leukocyten eine Zustandsänderung des Silbers vorangeht oder folgt, die dann später durch irgendwelche Einflüsse wieder rückgängig gemacht wird. Vorstellung findet eine Stütze in der Beobachtung, nach intravenöser Injektion in inneren Organen abgelagertes Silber diese Depots verläßt und in anderen Geweben Es sei hier nur an die verschiedenen Bilder erinnert, die sich bei der Untersuchung der Nieren der verschiedenen Versuchstiere ergaben, wo ja besonders die Imprägnierung der Membrana propria kaum anders zu erklären sein dürfte. Daß die Sternzellen der Leber nach der intramuskulären Injektion für die Aufnahme des Silbers keine Bedeutung haben, ist wohl nicht zu verwundern, da man annehmen muß, daß das Silber auf den Lymphwegen in die inneren Organe gelangt. Wie bereits erwähnt, lassen die Leberpräparate des ersten Versuchstieres gewisse Abweichungen vom Normalen erkennen, die aber keine wesentliche Veränderung in der Ablagerung der Silberteilchen zu bedingen scheinen, denn abgesehen von den Erscheinungen, die den Dauerversuch charakterisieren und denen des entsprechenden Versuches im III. Teil ähneln, finden sich die Silberteilchen bei beiden Tieren an den gleichen Stellen. Die quantitative Verschiedenheit zugunsten des zweiten Versuches erklärt sich ohne Zwang daraus, daß dieses Tier 14 Tage nach der ersten Injektion getötet worden ist und außerdem eine erheblich größere Menge kolloidalen Silbers injiziert erhalten hat. Von Interesse dürfte jedenfalls die Ablagerung von Silberteilchen in den feinen Gefäßbahnen sein, die wohl Lymph- oder Gallencapillaren darstellen. Auch in den Lungenschnitten scheinen die in Reihen abgelagerten Partikelchen den Verlauf ganz feiner Lymphbahnen zu bezeichnen. Während in den Nieren des ersten Versuchstieres Silberteilchen nicht mit Sicherheit nachzuweisen sind. findet man bei dem Dauerversuch die beiden Formen von Ablagerung vereinigt, die nach der intravenösen Injektion nur getrennt beobachtet werden konnten, nämlich sowohl Silberteilchen in den Epithelien gewisser Bezirke von Harnkanälchen

wie auch die Imprägnierung der Membrana propria. Man könnte vielleicht annehmen, daß es sich hier um ein Übergangsbild handelte, welches das Bindeglied zwischen den beiden früher beobachteten Ablagerungsformen darstellt. Es könnte aber umgekehrt dieser Befund auch dahin gedeutet werden, daß dem Körper einverleibtes Silber auf verschiedenen Wegen und vielleicht auch in verschiedener Form in die Nieren gelangte, und daß es je nach der Applikationsform entweder zu gleicher Zeit, oder aber das eine schneller, das andere langsamer dort einträfe und wahrnehmbar würde. Auf die Befunde in Milz und Nebennieren näher einzugehen, dürfte sich bei dem geringen Material erübrigen, besonders da sie nicht von prinzipieller Bedeutung zu sein scheinen.

Alle Beobachtungen scheinen aber dafür zu sprechen, daß die Leukocyten jedenfalls nicht ausschließlich den Transport nach den inneren Organen vermitteln, ja, daß der von ihnen aufgenommene Teil des intramuskulär injizierten Silbers vielleicht überhaupt bedeutungslos geworden ist.

Für die Untersuchungen der Verteilung und des Schicksals des intraperitoneal injizierten kolloidalen Silbers stehen mir ebenfalls nur zwei Versuchstiere zur Verfügung. Es wurden aus äußeren Gründen für diese Versuche weiße Ratten gewählt und zur Injektion das mit R. & Sch. bezeichnete Präparat verwendet, das neuerdings unter dem Namen Dispargen in den Handel kommt.

1. Tierversuch. Am 19. VII. erhielt eine mittelgroße Ratte 1 com einer $0,1^{\,0}/_{0}$ igen isotonischen und stabilisierten Silberlösung intraperitoneal injiziert, die durch Lösen des Präparates R. & Sch. (Dispargen) in destilliertem Wasser unter Zusetzen des gleichen Quantums $1,6^{\,0}/_{0}$ iger Kochsalzlösung hergestellt wurde. Da vorauszusehen war, daß eine Aufnahme des Silbers in den Organismus nach intraperitonealer Einverleibung wesentlich längere Zeit brauchen würde als nach intravenöser, wurde dieses Tier erst 30 Stunden nach der Injektion getötet. Bei der sofort vorgenommenen Obduktion fand man deutliche graue, flockige Niederschläge auf dem großen Netz; sonst war makroskopisch keine Veränderung an den Organen zu erkennen. Gewebsstücke zur Untersuchung wurden entnommen aus Leber, Lunge,

Nieren mit Nebenniere, sowie einer großen mesenterialen Lymphdrüse.

Die Untersuchung der Leberschnitte, sowohl gefärbter wie ungefärbter, im durchfallenden Lichte ergab keinerlei vom Normalen abweichende Befunde; irgendwelche charakteristischen Niederschläge, im besonderen in den Sternzellen, waren nirgends zu finden. Auch im Dunkelfeld suchte man vergebens mit schwacher und mittlerer Vergrößerung nach lichtbeugenden Teilchen, erst mit stärkster Vergrößerung gelang es, an einzelnen Stellen solche zu erkennen. Die Silberablagerungen finden sich fast ausschließlich in der allernächsten Umgebung der zentralen Venen in Gestalt allerfeinster, ein bläulich-weißes Licht ausstrahlender Teilchen. Von einer besonderen Anordnung dieser Pünktchen zu sprechen, ist sehr schwer, doch kann man jedenfalls mit Sicherheit sagen, daß dieselben — — — nicht an Sternzellen gebunden sind, sondern hier und da in Form feinster Ketten eine oder zwei Kanten einer Leberzelle umziehen. An anderen Stellen scheinen die lichtbeugenden Partikelchen in geraden, zuweilen sich verzweigenden Linien auf den Leberzellen abgelagert zu sein (Gallencapillaren?). Diese Teilchen sind so außerordentlich klein, daß man selbst an bezeichneten Stellen im durchfallenden Lichte mit allerstärkster Vergrößerung nichts von ihnen erkennen kann.

Bei der gewöhnlichen Untersuchung der Lungenschnitte gewahrt man fast ausschließlich in der nächsten Umgebung größerer Gefäße, vorzugsweise - wenn nicht auschließlich von Arterien, rundliche Gebilde von braungelb durchscheinender Farbe. Sie finden sich stets innerhalb einer größeren oder kleineren Ansammlung von Rundzellen, die als Lymphfollikel anzusprechen sind, und erscheinen ihrer Form und Größe nach als mit Teilchen beladene Leukocyten. Andere Niederschläge, wie sie in verschiedenen der früher beschriebenen Präparate beobachtet wurden, sind hier nicht zu erkennen. Im Dunkelfeld leuchten diese rundlichen Gebilde ziemlich intensiv in bald mehr silbernem, bald mehr goldenem Glanze. Bei stärkster Vergrößerung kann man vielfach auch ihre Zusammensetzung aus einzelnen lichtbeugenden Punkten erkennen. Im übrigen ist das Lungengewebe vollständig frei von lichtbeugenden Teilchen.

Weder an gefärbten noch an ungefärbten Nierenpräparaten war im durchfallenden Lichte außer einer leichten Trübung des Epithels an einigen Stellen etwas Besonderes zu erkennen. Weder in den Glomerulusschlingen noch in den Spalträumen zwischen den Harnkanälchen waren die bei manchen anderen Versuchen beobachteten schwarzen oder braunen Niederschläge zu finden. Die Untersuchung im Dunkelfeld ergab, daß die Epithelien mancher Harnkanälchen, sowohl gewundener wie gerader, ein mattsilbernes Licht ausstrahlten, während andere, benachbarte, keinerlei Lichtbeugungserscheinungen aufwiesen; eine sichere Beeinflussung durch dünne Cyankalilösung war nicht zu erkennen.

In der Nebenniere gewahrte man weder im durchfallenden Lichte noch im Dunkelfeld irgendwelche Niederschläge. Die Struktur, der Blutgehalt sowie die Färbbarkeit der Kerne sind durchaus normal.

Auch die Milzpräparate lassen im durchfallenden Lichte keinerlei Niederschläge erkennen; dagegen werden bei der Dunkelfeldbetrachtung in diesen Schnitten Abweichungen von dem normalen Befunde wahrnehmbar. Schon bei mittlerer Vergrößerung sieht man die Milzfollikel umgeben von mehr oder weniger konzentrischen Kreisen, die aus ziemlich gleich großen, in mattem Silberglanz strahlenden rundlichen Gebilden bestehen. Bei der Untersuchung mit stärkster Vergrößerung gewahrt man, daß es sich hier stets um Ablagerungen allerfeinster, lichtbeugender Teilchen in oder auf einer Zelle handelt. Man sieht hier an einigen Stellen ganz deutlich den mit Hämatoxylin gefärbten Zellkern dunkelkupferfarben schimmern und von einem Kranz allerfeinster, strahlend weißer Pünktchen umgeben. An anderen Stellen ist die Schicht der den Kern umgebenden Pünktchen nicht gleichmäßig dick und zeigt nach der einen oder anderen Seite hin eine Ausbeulung; an wieder anderen Punkten - und das ist das häufigste - sieht man diese weißen Ablagerungen einfach als rundliche Gebilde in der Milzpulpa liegen. Zahlreich finden sich diese mit Silberteilchen beladenen Zellen nahe der Oberfläche des Organes; hier strahlen sie das intensivste Licht aus, wie man denn auch nur hier mit starker Vergrößerung einzelne lichtbeugende Pünktehen in, resp. auf den Zellen isolieren kann.

In den retroperitonealen Lymphdrüsen sieht man bei durchfallendem Lichte mit mittlerer Vergrößerung hier und da einen rundlichen, körnigen, braun durchscheinenden Niederschlag; bei starker Vergrößerung erkennt man, daß es sich hier um wohlcharakterisierte Leukocyten handelt, die sich mit den braunen Teilchen beladen haben. In dem einen der Präparate ist eine die Lymphdrüse durchziehende Gefäßbahn so glücklich getroffen, daß man mit Sicherheit sagen kann, es liegen fast die sämtlichen eben beschriebenen Gebilde im Lumen dieses Gefäßes. Bei der Untersuchung im Dunkelfeld erkennt man, daß außer den bereits beobachteten noch eine Anzahl anderer Leukocyten mit stark lichtbeugenden Teilchen beladen sind; dieselben liegen zum größten Teil ebenfalls innerhalb der Gefäßlumina. Außer diesen Silberteilchen sind in den Schnitten auch bei stärkster Vergrößerung keine lichtbeugenden Teilchen zu erkennen. Das die Lymphdrüse umgebende Gewebe enthält im ganzen keine lichtbeugenden Teilchen; abgesehen von einem schmalen Bindegewebszug, im Verfolg des Schnittes als Gefäßwand herausstellt. gewahren hier eine fortlaufende Reihe von gleich großen, silberhell leuchtenden Teilchen, die, dem Verlauf dieser Gebilde folgend, sich deutlich gegen die dunkle Umgebung ab-Diese Ablagerungen sind wesentlich kleiner als die in den Lymphdrüsen beobachteten und scheinen nicht in Leukocyten eingeschlossen zu sein, sondern zwischen den einzelnen Gewebsfasern gelagert.

Alle leuchtenden Teilchen verschwinden unter der Einwirkung einer dünnen Cyankalilösung vollständig.

2. Tierversuch. Die für diese Versuche dienende Ratte hatte ebenfalls am 19. VII. 1 ccm einer ca. $0.1^{0}/_{0}$ igen stabilisierten isotonischen Lösung des Präparates R. & Sch. intraperitoneal erhalten, wurde aber erst 5 Tage nach der Injektion getötet und obduziert. An den inneren Organen waren makroskopisch keinerlei Veränderungen zu konstatieren. Es fand sich nicht mehr eine so deutliche Ablagerung von ausgeflocktem Silber auf dem Netz und Peritoneum, wie bei dem vorigen Versuchstiere. Von Leber, Lunge, Niere, Nebenniere und Milz wurden Stücke zur mikroskopischen Untersuchung entnommen, ebenso verarbeitet wie alle anderen Präparate.

Während die Leberschnitte in durchfallendem Lichte bei schwacher und mittlerer Vergrößerung keinerlei Besonderheiten aufwiesen, gewahrte man im Gegensatz zu dem vorhergehenden Versuche hier bei stärkster Vergrößerung hier und da kleine rundliche Ansammlungen von braun durchscheinenden Körnchen, die größtenteils — wenn nicht ausschließlich — in den mittleren und kleineren Gefäßen zu finden waren. scheinen durchweg in Zellen zu liegen, die man bald an der Gefäßwand, bald frei im Lumen findet. Im Dunkelfeld erweisen sich diese Ablagerungen durchweg als stark lichtbeugend. Neben diesen verhältnismäßig groben Teilchen, die wohl stets in Leukocyten eingeschlossen waren, erkannte man bei starker Vergrößerung noch eine Menge viel kleinerer, ebenfalls stark lichtbeugender Teilchen, die durchweg an den Wänden der interlobulären Gefäße, sowie auch der zwischen den Kolonnen der Leberzellen verlaufenden Capillaren hafteten. es an einzelnen Stellen nicht mit Sicherheit auszuschließen ist, daß diese Teilchen in Sternzellen sich befinden, trifft dies für die Hauptmenge der Teilchen nicht zu, so vor allem in den großen interlobulären Gefäßen. Auch bei diesem Versuchstiere waren in der Umgebung der Zentralvenen die bereits beim vorigen Versuche beschriebenen Ablagerungen allerfeinster lichtbeugender Teilchen zu konstatieren; auch hier waren sie fast immer zu kurzen Ketten angeordnet. Das von ihnen ausgehende Licht hatte einen deutlich blauen Schimmer, was nach den bisher gemachten Erfahrungen auf besondere Kleinheit der einzelnen Teilchen hindeutet. Die Prüfung dieser Schnitte mit 1/2 0/0 iger Cyankalilösung erbrachte den Beweis, daß es sich auch hier wieder um Silberteilchen handelte, denn abgesehen von einzelnen auf dem Schnitt liegenden Verunreinigungen, die das Licht ababbeugten, verschwanden daraufhin alle anderen leuchtenden Teilchen.

Die Lungenschnitte zeigen bei mittlerer Vergrößerung keine Abweichungen von der Norm. Bei stärkster Vergrößerung erkennt man hier und da im interalveolären Gewebe Zellen, deren Protoplasma bräunliche Körnchen enthält, ohne daß darum das Protoplasma im ganzen eine braune Farbe angenommen hätte. Auch in zwei peribronchialen Lymphdrüsen

gewahrt man einige derartige Zellen, doch muß ihre Zahl sowohl hier wie im Lungengewebe selber als ziemlich gering b ezeichnet werden; von irgendeiner besonderen Anordnung derselben kann man nicht sprechen. Bei der Untersuchung der Schnitte im Dunkelfeld kann man feststellen, daß die sämtlichen oben beschriebenen Zellen mit stark lichtbeugenden Körnchen angefüllt sind; daneben gewahrt man noch eine große Zahl von anderen, die im durchfallenden Lichte nicht erkennbar waren. Immerhin ist, mit den Lungenschnitten der mit intravenöser Injektion behandelten Versuchstiere verglichen, der Gehalt dieser Präparate an lichtbeugenden Teilchen recht gering. Diese Teilchen sind hier stets an zellige Elemente gebunden, vorzugsweise haben sich Leukocyten mit einer größeren Menge von Körnchen beladen; an einzelnen Stellen aber beobachtet man kleinere Gebilde, von deren Oberfläche ein matter Silberglanz ausgeht, ohne daß es gelänge, einzelne leuchtende Teilchen zu unterscheiden. Einmal scheinen auch rote Blutkörperchen mit dieser schimmernden Hülle umgeben zu sein. Schließlich sei noch notiert, daß man auch einzelne lichtbeugende Punkte hier und da im Lungengewebe wahrnehmen kann, die, ebenso wie die an den eben beschriebenen Zellen angelagerten, im durchfallenden Lichte nicht erkennbar waren.

An den Nieren präparaten kann man im durchfallenden Lichte keinerlei Abweichungen von der Norm erkennen. Irgendwelche Niederschläge sind an keiner Stelle wahrnehmbar. Bei der Untersuchung im Dunkelfeld erhält man Bilder die der Phantasie weiten Spielraum lassen; dieselben richtig zu deuten, ist selbst unter Beziehung auf die bis jetzt untersuchten Präparate der anderen Versuchstiere außerordentlich schwer. Da man vielleicht bei der Beschreibung dieser Präparate sicherer geht, wenn man sich zunächst auf Ausschließungen beschränkt, so sei notiert, daß auch im Dunkelfeld keinerlei gröbere Niederschläge zu erkennen waren, daß auch eine Imprägnierung der Propria, wie in Versuch 5, vollständig fehlt; mit Silber beladene Leukocyten in irgendwelcher beachtenswerten Zahl waren in keinem der Schnitte zu finden. Das einzige, was an dem mit Hämatoxylin gefärbten Präparat den Gedanken an Silberablage-

rungen hätte aufkommen lassen können, war die Tatsache, daß die Epithelien einzelner gewundener Harnkanälchen ein Protoplasma besaßen, von dem ein weißlich-grüner, matter Lichtschein auszugehen schien. Den gleichen Befund konnte man auch bei der Untersuchung von ungefärbten Nierenschnitten im Dunkelfeld erheben; aber auch hier gelang es nicht, eigentliche Teilchen zu erkennen. Daß aber die Nieren wenigstens Spuren von Silber enthielten, war durch die Tatsache bewiesen, daß die Kerne der Nierenepithelien an einzelnen Stellen sich durch ihren weißen Glanz deutlich gegen die Umgebung abhoben. Die Prüfung dieser Schnitte mit Kalilauge ergab keinerlei Veränderungen; 1/20/eige Cyankalilösung ließ den weißen Schimmer der Kerne in den Epithelien verschwinden, doch getraue ich mich nicht zu entscheiden, ob sie auch eine Änderung in dem Aussehen der mattglänzenden Harnkanälchen herbeigeführt hat; die Epithelien erschienen zwar weniger leuchtend als zuvor, man konnte jedoch nicht mit Sicherheit sagen, daß jede Spur von Lichtbeugung verschwunden wäre. Die Entscheidung darüber, ob das Protoplasma der Nierenepithelien nach intraperitonealer Injektion eines stabilisierten, isotonischen Silberhydrosols kleinste Silberteilchen enthält oder nicht, kann deshalb zunächst nicht gefällt werden.

Die Nebennierenpräparate lassen im durchfallenden Lichte keinerlei Besonderheiten erkennen. Im Dunkelfeld sieht man in den Spalträumen zwischen den Reihen der Rindenzellen hier und da eine mit mattsilber-glänzenden kleinsten Teilchen besetzte Stelle, offenbar Leukocyten, daneben aber scheint von einzelnen Zellkernen ein mattweißlicher Schein auszugehen, ähnlich wie bereits früher an anderen Stellen beschrieben. An mit Cyankalilösung behandelten Schnitten ist davon nichts mehr zu erkennen.

Die Milzpräparate weisen sowohl im durchfallenden Lichte wie im Dunkelfeld große Ähnlichkeit mit denen des vorigen Versuchstieres auf, nur erkennt man im Dunkelfeld, daß hier die Zahl der mit Silberteilchen beladenen Zellen wesentlich größer ist. Man kann hier sehr schön unterscheiden zwischen den großen, mit Silberteilchen vollgestopften Leukocyten und den kleinen, protoplasmaarmen Pulpazellen, deren Kern nur

Verteilung u. Schicksal des kolloiden Ag im Säugetierkörper. IV. 233

von einem zart silbern schimmernden Mantel umgeben zu sein scheint.

Dünndarmschnitte wurden ebenfalls im Hellfeld und im Dunkelfeld untersucht, ohne daß man jedoch irgendwelche Niederschläge in ihnen hätte wahrnehmen können.

Die hier mitgeteilten Befunde zeigen, daß auch nach intraperitonealer Injektion das kolloidale Silber ziemlich langsam in die inneren Organe gelangt. Der Transport des Silbers scheint hier ebenfalls nicht ausschließlich durch die Leukocyten vermittelt zu werden, sondern wenigstens teilweise durch eine vorübergehende Zustandsänderung des zunächst ausgeflockten Silbers ermöglicht zu werden. Von besonderem Interesse scheint die Tatsache zu sein, daß bereits 30 Stunden nach der Injektion ganz feine Silberteilchen in der Leber zu erkennen sind, die dort dem Verlauf von Gallen- oder Lymphcapillaren entsprechend abgelagert sind: von einem Transport durch Leukocvten ist hier noch nichts zu beobachten. 5 Tage nach der Injektion hat sich die Menge der feinen Silberpartikelchen ganz beträchtlich vermehrt, und man begegnet ihnen jetzt auch in den anderen Lebergefäßen. Es ist wohl eigentlich unnötig, zu betonen, daß mit dem Ausdruck "abgelagert" nicht unter allen Umständen gesagt sein soll, daß die Teilchen festliegen müssen; ist es doch zunächst unmöglich, festzustellen, ob sie frei im Lumen lagen oder nicht, ganz abgesehen davon, daß sie möglicherweise auch erst unter dem Einflusse des Fixierungsmittels sich gebildet haben könnten! Daß bei dem zweiten Versuch neben den Leukocyten auch auf oder in roten Blutkörperchen feinste Silberteilchen sich zu finden scheinen, dürfte von besonderem Interesse sein und zu weiteren Untersuchungen auffordern. Bis zu einem gewissen Grade würde diese mikroskopische Beobachtung in Parallele zu setzen sein mit der Tatsache, daß nach intravenöser Injektion bei dem Dauerversuch Silber analytisch im Blute nachzuweisen war. Der von französischen Autoren mitgeteilte spektroskopische Nachweis von kleinsten Silbermengen ist meines Wissens noch nicht nachgeprüft worden, und die von ihnen gemachten Angaben sind, wie leider nur zu oft, ungenau. Es würde sonst eine fortlaufende Kontrolle mit dieser Methode zu interessanten Resultaten führen.

Die bei der Untersuchung der Lunge, Milz und Nebennieren erhobenen Befunde sind ohne besonderes Interesse, dagegen erhalten wir von den Nieren Bilder, die von dem bisher Beobachteten abweichen und darauf hinzuweisen scheinen, daß auch auf dem Kerne von Nierenepithelien allein unter Umständen ein Ablagern allerfeinster Silberteilchen stattfinden kann.

Wie ich bereits bemerkte, betrachte ich meine Untersuchungen über die Verteilung und das Schicksal des kolloiden Silbers im Säugetierorganismus keineswegs als abgeschlossen auch für die Untersuchungen anderer Metalle liegen die Präparate schon lange bereit -; aber sie haben während der ⁵/₄ Jahre, die ich im Felde bin, ruhen müssen. Auch war ich während der wenigen Tage des Urlaubs nicht in der Lage, die ganze in der Zwischenzeit erschienene Literatur durchzusehen. Ich muß deshalb auch darauf verzichten, auf die Perspektiven einzugehen, welche die bisher erhobenen Befunde zu eröffnen scheinen. Daß diesen Mitteilungen manche Mängel anhaften, ist mir wohl bewußt, mußten sie doch unter allerlei Schwierigkeiten fertiggestellt werden. Immerhin glaube ich annehmen zu können, daß die hauptsächlichen Ergebnisse dieser Untersuchungen von Interesse sein werden; sie lassen sich kurz in folgenden Sätzen zusammenfassen:

Ein Schutz eines Silberhydrosols gegen das Ausflocken im Organismus ist mit den bis jetzt zu Gebote stehenden Mitteln nicht zu erreichen. Sowohl nach intravenöser wie nach intramuskulärer oder intraperitonealer Injektion fällt das kolloide Silber sehr schnell aus. Während es in den beiden letzteren Fällen zunächst an der Injektionsstelle liegen bleibt, gelangt es intravenös einverleibt mit dem strömenden Blute nach den inneren Organen; dort lagert es sich ab, hauptsächlich in Leber, Milz und Knochenmark, und verschwindet aus dem Blute. Aus diesen Organen wird es, ebenso wie an den Injektionsstellen, anscheinend durch eine Zustandsänderung allmählich frei und lagert sich an anderen Punkten wieder ab; hieraus resultiert eine Veränderung der Verteilung. Manche Beobachtungen scheinen darauf hinzudeuten, daß dafür verschiedene Wege und Möglichkeiten in Frage kommen, wie z. B. das Auftreten von Silber im Blut beim Dauerversuch, nachdem es daraus vollständig verschwunden war, und die verschiedenen Arten der Silberablagerungen in den Nieren. Die Ausscheidung des Silbers scheint sehr langsam vor sich zu gehen oder ganz allmählich zu erfolgen, da innerhalb der ersten 8 Tage nach der ersten Injektion weder im Urin noch im Kot analytisch nachweisbare Spuren von Silber auftraten.

Die aus diesen Untersuchungen sich für die therapeutische Verwendung des kolloiden Silbers ergebenden Richtlinien sind an anderem Orte (Münch. med. Wochenschr. Nr. 37, 1915) mitgeteilt worden.

Pharmakologische Versuche am überlebenden Darm.

Von

Richard Meißner, derzeit im Felde.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Breslau.)

(Eingegangen am 7. Dezember 1915.)

Mit 1 Figur und 20 Kurven im Text.

Die Beziehung der Darmwirkung gewisser Alkaloide auf in ihrem Molekül vorhandene Kerne hat neben der Möglichkeit der Zusammenfassung einer Reihe von Einzelbeobachtungen in eine übersichtliche Formel noch die Bedeutung, daß die chemische Synthese neuer Alkaloidderivate bestimmter Wirkung von klaren Grundlagen aus einsetzen kann. Die Fassung solcher Normen muß daher vollkommen sicher stehen. Die physiologischen Reaktionen der Gruppen müssen eindeutig, ausgiebig und zeitlich nachhaltig genug sein, um als Basis für weiteres Arbeiten benutzt werden zu können.

Von diesem Gesichtspunkte aus seien nachfolgende Versuche veröffentlicht, um in einem hierher gehörigen Fall Stellung nehmen zu können; den äußeren Anlaß hierzu bot der Umstand, daß auf meine Arbeit "Die Beeinflussung des Morphins durch die Nebenalkaloide des Opiums") zwei Erwiderungen veröffentlicht wurden. Die eine von W. Straub³), die ich bereits in dieser Zeitschrift³) besprochen habe, die andere von Pal und Popper⁴), auf die ich zunächst eingehen möchte. Es handelt sich hierbei um Versuche über die Beeinflussung des isolierten Darmes durch Opiumalkaloide.

¹⁾ Diese Zeitschr. 54, 395, 1913.

²) Diese Zeitschr. 57, 156, 1913.

³) Diese Zeitschr. 67, 502, 1914.

⁴⁾ Diese Zeitschr. 57, 492, 1913.

Pal, Popper und Frankl¹) hatten festgestellt, daß unter den Opiumalkaloiden die Vertreter der Phenanthrengruppe die Tätigkeit des isolierten Darmes erregen, während die der Isochinolinreihe hemmend oder lähmend wirken. In meiner oben genannten Arbeit hatte ich gesagt, daß Thebain und Morphin (letzteres nur in größeren Dosen) die Tätigkeit des isolierten Darmes hemmen, daß Kodein sie aber ziemlich unbeeinflußt ließe. Gegenüber dieser Veröffentlichung halten nun Pal und Popper²) ihre Anschauung aufrecht, daß die Phenanthrenabkömmlinge unter den Opiumalkaloiden den Darm erregen, während die der Isochinolinreihe hemmen. Ich sah mich deshalb veranlaßt, den zur Diskussion stehenden Unterschied beider Gruppen eingehender zu studieren und eine größere Anzahl (hunderte) neuer Versuche auszuführen. Die Ergebnisse derselben, die schon vor dem Kriege gewonnen waren, sollen den ersten Teil dieser Arbeit bilden.

I.

Als wichtigste Opiumalkaloide der Phenanthrengruppe gelten Morphin, Kodein, Thebain. Von den Isochinolinderivaten sind die wesentlichsten: Narkotin, Papaverin, Narcein. Das letztere läßt sich kaum in neutrale oder schwach alkalische Lösung bringen und ist deshalb zu Darmversuchen ungeeignet. Die beiden anderen Abkömmlinge des Isochinolins wirken nach den einstimmigen Erfahrungen aller Autoren hemmend auf den isolierten Darm. Nicht minder hemmend wirkt schon in Milligrammen nach meinen Erfahrungen das Isochinolin selbst. Die Meinungen gehen nur über die Phenanthrenderivate auseinander. Hier kann ich mich nun, um das vorauszunehmen, auch nach meinen neuerlichen Versuchen durchaus nicht der Anschauung Pals und Poppers anschließen, sondern bin der Meinung, daß die drei in Frage kommenden Alkaloide nicht einheitlich und gleichartig wirken. Es war mir von früher sehr wohl noch in Erinnerung, daß man bei Beeinflussung des isolierten Darmes durch diese Phenanthrenderivate nicht mit so energischen Wirkungen zu rechnen hat, wie sie andere Substanzen, z. B. das Pilocarpin, Bariumchlorid oder

¹⁾ Pal, Centralbl. f. Physiol. 1902, 68. — Popper und Frankl, Deutsche med, Wochenschr. 1912, Nr. 28.

²) Diese Zeitschr. 57, 492, 1913.

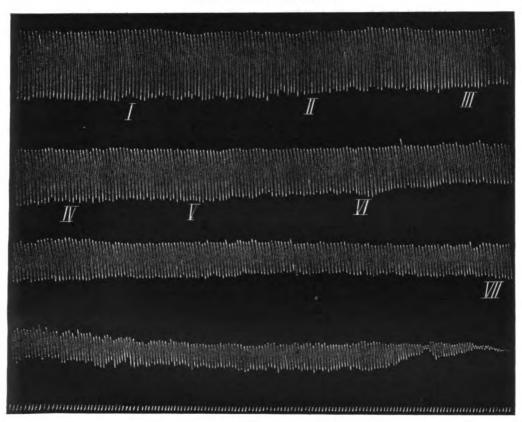
Papaverin, hervorrufen. Gerade dies bewog mich, die Wirkung dieser Alkaloidlösungen in den verschiedensten Konzentrationen zu beobachten, mich nicht mit einer Dosis zu begnügen, sondern mir Übersichtsbilder über die Gesamtwirkung zu beschaffen. Dazu war es vor allem nötig, daß ich nur solche Darmstücke wählte, die in der reinen Nährlösung über eine größere Strecke hin eine Normalkurve von ungefähr gleicher Amplitudenhöhe und gleichem Rhythmus geschrieben hatten. Ich folgte in der Zubereitung der Darmstücke den Vorschlägen Neukirchs 1). Die zu prüfende Alkaloidlösung war neutral, höchstens ganz schwach alkalisch, um jegliche Säure- und Alkaliwirkung auszuschalten, und ich wärmte sie auf die Temperatur der Tyrodelösung vor. Ich benutzte fast ausschließlich die Längsmuskulatur des Kaninchendarms, da ich nach Vorversuchen die Angaben von Popper und Frankl^s) bestätigen kann, daß bei Prüfung von reinen Opiumalkaloiden sich qualitativ wichtige Unterschiede zwischen Ring- und Längsmuskelpräparaten nicht zeigen. Die übersichtliche Schreibweise am ganz langsam laufenden Kymographion habe ich absichtlich nicht benutzt, sondern, um selbst jede kleine Beeinflussung wahrzunehmen, die Kurven etwas weiter auseinander schreiben lassen. Mein Versuchsverfahren unterscheidet sich also von dem Pals und Poppers durch die Einwirkung einer Reihe verschieden großer Alkaloiddosen auf dasselbe Darmstück und ist vielleicht auch dadurch anders, daß Pal und Popper in Ringer-, ich in Tyrodelösung arbeitete. Von einer Anwendung unreiner Präparate meinerseits, die diese Autoren als mögliche Ursache meiner von den ihren verschiedenen Ergebnisse annehmen, kann gar keine Rede Ich habe von Anfang an nur tadellose Alkaloide von Merck und Hoffmann-La Roche verwendet, also aus denselben Fabriken, von denen auch Pal und Popper ihre Präparate bezogen. Unter Berücksichtigung all dieser Momente nun habe ich sehr viele einwandfreie Kurven gewonnen, und ich gebe zunächst aus einer ganzen Anzahl gleichartiger Befunde eine Kodeinkurve wieder (Kurve 1).

Vergleicht man in dieser Kurve die Strecke vor und nach

¹⁾ Arch. f. d. ges. Physiol. 147, 153, 1912.

⁵) Popper und Frankl, Deutsche med. Wochenschr. 1912, Nr. 28.

Kurve 1. Kodein. phosphor.



	Bei	I	Zusatz	zur	Außenflüssigkeit	1:800000,
	,,	II	n	77	7	1:400 000,
	*	Ш	,	,	77	1:200000,
•	,	IV	77	n	77	1:100000,
	,	V	7	,	,	1: 50 000,
	,	VI	77	77	,	1: 20000,
	77	VII	77	,	,	1: 10000.

der ersten Kodeingabe (Verdünnung des Alkaloids in der Außenflüssigkeit 1:800000), so ist ein nennenswerter Unterschied nicht zu erkennen. Man könnte höchstens sagen, das Niveau der oberen Kurvenspitzen hat sich vorübergehend um ein Geringes gesenkt. Ich habe derartige Unterschiede, die häufig auch ohne jeden Alkaloidzusatz eintreten, unberücksichtigt ge-

lassen. Nach der zweiten Kodeingabe (1:400000) hat sich das Niveau der unteren Kurvenspitzen etwas gehoben, während das der oberen gleich hoch geblieben ist. Die Amplitudenweite verkürzt sich ein wenig, aber es kommen auch jetzt noch Erhebungen desselben Ausmaßes wie in der Norm vor (26 mm im Durchschnitt). Zeitlicher Rhythmus, Tonushöhe sind die gleichen geblieben, und deshalb kann man auch nach der zweiten Kodeingabe von einer Beeinflussung der Darmtätigkeit nicht reden. Nach der dritten Kodeinzufuhr (1:200000) nehmen die Amplitudenweiten ab, und diese Abnahme wird deutlicher von Dosis zu Dosis. Es ist aber wichtig, festzustellen, daß weder der Rhythmus, noch die Tonushöhe gestört wird. Das Niveau der oberen Spitzen steigt nirgends an. Die ganze Veränderung besteht bis zur letzten Kodeingabe in einem Kleinerwerden der Amplituden. Wenn auf Kosten der verminderten Amplitudenweite eine energische Tonussteigerung oder eine starke Frequenzbeschleunigung auftreten würde, dürfte man von einer Erregung des Darmes sprechen. So wie die Verhältnisse aber hier liegen, ist nur der Schluß gestattet, daß Kodein in kleinen Gaben den isolierten Darm nicht beeinflußt, in größeren aber dessen Tätigkeit hemmt, eine Auffassung, die sich auch mit der klinischen Erfahrung über die Kodeinwirkung deckt.

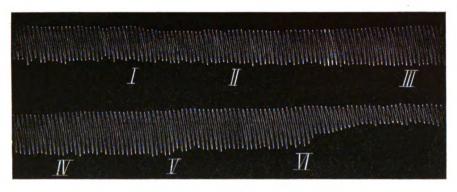
Etwas anders fand ich die Verhältnisse bei Morphin.

Einige Male wurde durch kleine Mengen dieses Alkaloids ebenfalls keine nennenswerte Veränderung einer Kurve hervorgerufen. Öfters aber zeigte sich nach geringen Gaben eine vorübergehende Amplitudenvergrößerung und gleichzeitig eine Tonussteigerung, wie z. B. bei Kurve 2; schließlich erfolgt doch die Bewegungshemmung.

Hier möchte ich eine geringgradige Erregung des Darmes annehmen, doch ist der Ausschlag erstens zu unbedeutend, zweitens nicht regelmäßig genug zu beobachten, um ihn zum Fundament einer These von Beziehung zwischen Konstitution und Wirkung zu benutzen. Nach größeren Gaben Morphin tritt immer Hemmung ein.

Bei dem dritten in Frage stehenden Alkaloid, bei Thebain, sind die Kurven ohne Ausnahme gleichmäßig im Sinne einer Hemmung verlaufen. Es entstand immer dasselbe Bild der

Kurve 2. Morphin. hydrochl.



```
Bei I Zusatz 0,03 ccm Morphinlösung = 1:667000,

"III " 0,1 " " = 1:200000,

"III " 0,2 " " = 1:100000,

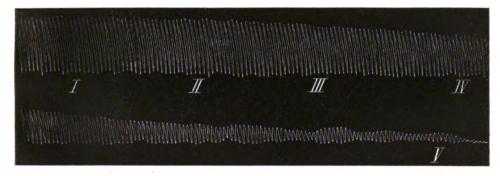
"IV " 0,6 " " = 1:33000,

"V " 1,0 " " = 1:20000,

"VI " 2,0 " " = 1:10000.
```

Darmtätigkeit sowohl nach kleinen wie auch nach größeren Dosen (Kurve 3).

Kurve 3. Thebain. hydrochl.



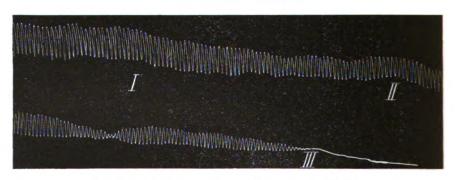
Biochemische Zeitschrift Band 73.

Überblicke ich diese Resultate, so komme ich zu dem Schlusse:

	Die Normalkurve des is in kleineren Mengen	
durch Morphin	erregt (manchmal)	gehemmt
" Kodein		"
" Thebain	gehemmt	n

Man könnte mir entgegenhalten, da Morphin in kleineren Gaben einige Male erregte, andere Male keine Veränderung hervorrief, so ist eine einwandfreie Beurteilung nicht möglich. Demgegenüber möchte ich betonen, daß auch bei einigen längere Zeit völlig gleichmäßig bleibenden, normalen Darmstücken ganz plötzlich eine geringe hemmende, bei anderen eine geringe erregende Wirkung eintrat. Außerdem habe ich ein ähnliches, nicht einheitliches Resultat wie beim Morphin roch bei einem weiteren Opiumalkaloid, bei dem Protopin erhalten. Nach den Forschungen Gadamers und seines Schülers Dankworth¹) ist dieses Alkaloid, das Leitalkaloid der Papaveraceen nach E. Schmidt, als ein sicherer Isochinolinabkömmling anzusehen. Es sollte nach den homologen Erfahrungen nur hemmend wirken. Achtmal bekam ich auch dieses Resultat (Kurve 4).

Kurve 4. Protopin. hydrochl.



¹⁾ P. W. Dankworth, Zur Kenntnis des Protopins und Kryptopins. Arch. f. Pharmazie 1912. — Herrn Prof. Gadamer sei hier nochmals für die Überlassung des tadellos reinen, krystallinischen Präparates gedankt.

Beim neunten Mal erhielt ich eine Darmerregung. Soll ich nun wegen dieses einen Versagers schließen, das Protopin wirke nicht einheitlich? Die Beurteilung seiner Wirkung ist nicht einwandfrei? Ich meine: nein. Nur die Überzahl der übereinstimmenden Resultate darf ausschlaggebend sein, und die war hier hemmend, bei Morphin in kleinen Dosen indifferent bis erregend. Am einschneidendsten für unsere Frage sind aber die Versuche bei Thebain: ist auch nur eines der Opiumalkaloide aus der Phenanthrengruppe immer hemmend, und das gilt für das Thebain, so kann die Regel nicht allgemein gültig sein, daß die Phenanthrenderivate des Opiums den isolierten Darm erregen.

II.

Beeinflussung des isolierten Darmes von der Darminnenseite aus.

Um zur Beantwortung obiger Streitfragen weitere Tatsachen zu gewinnen, habe ich noch eine zweite Versuchsanordnung,

der vielleicht ein gewisses prinzipielles Interesse innewohnt, gewählt. Bei den gebräuchlichen Versuchen am isolierten Darm ist die Beeinflussung durch Blut und Lymphe an und für sich ausgeschaltet. Die Nährlösung soll beide zum Teil ersetzen und dem überlebenden Gewebe die notwendigen Nährstoffe zuführen. Ich habe nun für die nachfolgenden Versuche neben der die Außenwand des Darmes umspülenden Tyrodelösung, um nicht durch den Alkaloidzusatz ihre Zusammensetzung zu stören, die zu prüfende Substanz auf das Darminnere einwirken lassen. Hierzu wurde folgender Apparat (siehe Zeichnung Fig. 1) verwendet.

In den langen, ungefähr 5 mm Durchmesser besitzenden Arm der tabakspfeifenähnlichen, bei *B* mit einem gut eingefetteten Glashahn versehenen

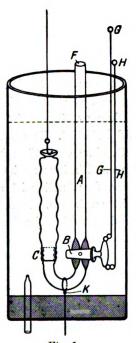
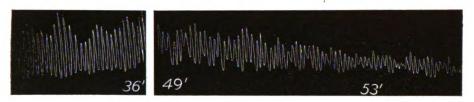


Fig. 1.

Glasröhre A wird ungefähr 1 ccm der zu prüfenden Lösung so eingefüllt, daß zwischen ihr und dem geschlossenen Dann schlingt Hahn B sich keine Luftblasen befinden. man die durch den Korkboden des Außenglases hervorgehende Schnur K um den Bogen der Röhre A und zieht diese völlig aus der Nährlösung heraus. Sodann wird das Ende des Darmstückes bei C festgebunden, das andere Ende entweder oben zugeschnürt und durch einen seidenen Faden mit dem Schreibhebel in Verbindung gebracht, oder es wird dasselbe über das eine Ende einer ungefähr 5 cm langen Hartgummiröhre geknüpft. Diese bleibt am anderen Ausgang offen und ist hier mit dem zu dem Schreibhebel führenden Seidenfaden verbunden. Der Darm darf beim Befestigen nicht gedrückt werden. Er ist beim Beginn des Versuches mit ungefähr 1/2 bis 1 com Tyrodelösung zu füllen, die hier an Stelle des Darminhaltes Verwendung findet. Arbeitet man mit dem eingebundenen Hartgummirohr, so ist natürlich darauf zu achten, daß dessen oberer Rand genügend hoch über das Niveau der Tyrodelösung zu stehen kommt. Man zieht dann vorsichtig mittels der Schnur K den Apparat in die Nährflüssigkeit. Schreibt der Darm gleichmäßig, so öffnet man behutsam den Hahn B mittels der mit ihm verbundenen Metallstäbe S und H, bläst vorsichtig durch einen bei F befestigten Gummischlauch die zu prüfende Lösung aus A in den Darm und schließt den Hahn schnell, damit keine Luft eintritt. Um das Versuchsfeld gut überblicken zu können, ist eine isolierte elektrische Birne im Wasserbad befestigt. Es erfordert eine gewisse Erfahrung, die Flüssigkeit, ohne eine störende Bewegung auszulösen, in den Darm zu blasen. Ein kurz nach dem Einführen der Flüssigkeit eintretender schwacher Anstieg ist als Reizerscheinung anzusehen und außer acht zu lassen. Man erhält diesen Anstieg auch, wenn man zu dem ruhig schreibenden Darm reine Tyrodelösung zufließen läßt. Alsbald aber stellt sich das Normalniveau wieder her.

Das Ergebnis der mit diesem Verfahren durchgeführten Versuche war eine Bestätigung der sonst am isolierten Darm gemachten Erfahrungen mit dem Unterschiede, daß hier die Wirkung langsam eintritt. So zeigten übereinstimmend mit den früheren Resultaten Papaverin und Narkotin starke Hemmungen, Morphin mäßige, Pilocarpin sehr starke Reizerscheinungen. Von Wichtigkeit erscheint die mit diesem Verfahren gewonnene Kurve 5. Auch hier eine deutlich hemmende Wirkung nach Thebain.

Kurve 5. (Thebain. hydrochl. von innen.)



Bei 36' 0,2 ccm der Thebainlösung in das Darmlumen.

Nach all diesen Erfahrungen komme ich somit zu dem Schluß, daß die physiologische Wirkung der Phenanthrenabkömmlinge unter den Opiumalkaloiden auf den isolierten Darm keine einheitliche, jedenfalls aber überwiegend hemmend ist und daß man aus dem chemischen Bau derselben niemals eine physiologische Wirkung auf den Darm folgern und eine physiologische Gruppierung durchführen kann. Gegenüber der Äußerung, die Scheidung der Opiumalkaloide quoad Wirkung in eine Phenanthren- und Isochinolingruppe stehe unerschüttert aufrecht, erkläre ich sie für unhaltbar und unbegründet.

Noch liegt die Frage nahe: ist denn überhaupt im chemischen Sinne eine scharfe Trennung der Phenanthren- von den Isochinolin-Opiumalkaloiden durchführbar? Ich glaube auch diese Frage verneinen zu müssen auf Grund folgender Worte Gadamers¹): "Die Alkaloide des Opiums können, soweit ihre Konstitution feststeht, als Derivate des Benzylisochinolins (Laudanosin, Papaverin, Narkotin und Narcein) oder des mehr oder weniger hydrierten Phenanthrens (Morphin, Kodein, Thebain) aufgefaßt werden; letztere sind nicht gleichzeitig Isochinolinabkömmlinge, doch stehen sie zum Isochinolin in naher Beziehung, wie die Entstehung des Apomorphins aus Morphin und Kodein, des Morphothebains aus Thebain erkennen läßt."

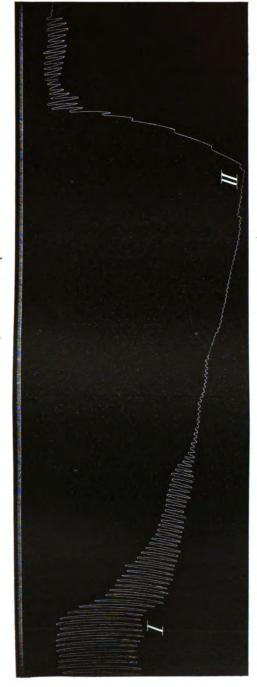
¹⁾ Zeitschr. f. angew. Chem. 26, 625, 1913.

III.

Die Untersuchung am überlebenden Darm hat nicht nur für gewisse Basen wichtige Aufschlüsse gebracht, sondern sie ist seither bereits auf eine weitere Reihe von Stoffen, selbst auf so zusammengesetzte Lösungen, wie Pflanzenextrakte, angewendet worden. Daß dieses Verfahren bei genauer pharmakologischer Analyse neue Eigenschaften, feine Unterschiede scheinbar nahestehender Stoffe kennen lehrt, zeigt die schöne experimentelle Arbeit von Hirz¹), der bewies, daß für das den Darm ruhig stellende Uzaron ein anderer Wirkungsmechanismus in Frage kommt als bei den Opiumalkaloiden. Auch ich habe im Jahre 1913/14 eine große Reihe nichtalkaloidischer Stoffe zu solchen Darmversuchen benutzt und zwar vorwiegend mit der Absicht, noch weiteres kritisches Material für folgende Fragen zu gewinnen. Ist es überhaupt gestattet, die am isolierten Darm beobachteten Tatsachen auf das intakte Tier, auf den Menschen zu übertragen? Die bekannten Varianten der Wirkung der Hypophysenextrakte nach Spezies und physiologischem Zustande der Versuchstiere berechtigten per analogiam in unserem Falle zu weitgehendem Zweifel. Noch im folgenden Punkt bringen meine Versuche Ergänzung zu dem bisher Bekannten. Zur näheren Lokalisation der Angriffspunkte von Giften sowie zur Unterscheidung scheinbar gleichartig wirksamer Substanzen ist, wie sonst beim Herzen, der Iris, auch am Darm die Benutzung von Antagonisten herangezogen worden. Für den Darm und die Opiumalkaloide verfuhr Hirz wie folgt: Man gibt zu einem isolierten Darmstück ein darmlähmendes Alkaloid und fügt nach der Lähmung Pilocarpin hinzu; der Darm wird jetzt erregt, wenn es sich vordem um Hemmungswirkung durch Reizung des Sympathicus gehandelt. Er bleibt gelähmt, wenn eine Vaguslähmung oder Muskelwirkung durch das erste Alkaloid hervorgerufen wurde. Ist die eine Angriffsstelle gelähmt, so ist nur noch die andere für die Reizwirkung eines erregenden Stoffes zur Verfügung. Narkotin und Papaverin scheinen unter den lähmenden Opiumalkaloiden auf die Vagusenden zu wirken. Setzt man einem so gelähmten Darmstück Pilocarpin,

¹⁾ Untersuchungen am überlebenden Darm mit besonderer Berücksichtigung des Uzarons. Arch. f. exper. Path. u. Pharm. 74, 318, 1913.

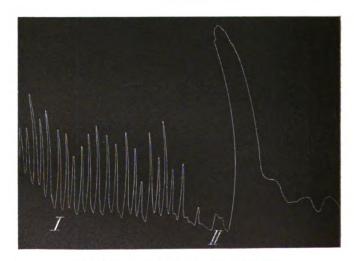
Kurve 6. Extr. Opii und Pilocarpin.



Bei I Zusatz von Extr. Opii 0,5 ccm,
" II " " Pilocarpin 1:20000.

ein die Vagusendigungen erregendes Gift hinzu, so erzielt man keine Reizwirkung. Lähmt man aber zuerst mit einem die Sympathicusenden treffenden Stoff, z. B. mit Adrenalin, und gibt jetzt Pilocarpin, so erhält man eine starke Darmerregung. Die gleiche Wirkung wie bei Adrenalin-Pilocarpin bekam Hirz mit Uzara-Pilocarpin. Er sah in dieser Erscheinung den Hauptgrund für die Auffassung der Uzara als eine die Sympathicusenden erregende Substanz. Ein dem Uzara-Pilocarpin entgegengesetztes Verhalten fand er bei Versuchen mit Opium-Pilocarpin und Papaverin-Pilocarpin. Er schreibt: War der Darm durch Opium oder Pantopon ruhig gestellt, so ließ sich selbst bei erhaltenem Rhythmus keine oder nur ganz schwache Reaktion auf Pilocarpin erkennen, bisweilen trat sogar völliger Stillstand ein. Daß in dieser Richtung nun auch gelegentlich Ausnahmen vorkommen, lehrt folgende Kurve, die mit einem frisch bezogenen Opiumextrakt angefertigt ist. Kurve 6.

Man sieht hier nach einem gleichmäßigen Normalverlauf der Kurve auf Opium eine bis zur minimalen Amplitudenweite heruntergehende Hemmung eintreten. Geringe rhythmische Bewegungen sind noch zu erkennen. Nach nun folgender



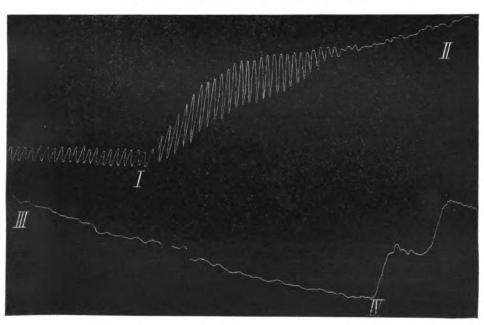
Kurve 7.

Bei I Zusatz von Papaverin 1:200000, " II " " Pilocarpin 1:33000.

Pilocarpingabe erscheint aber die ausgesprochenste Darmerregung.

Homolog verlief der Versuch bei Papaverin und Pilocarpin. Kurve 7.

Auch hier also nach ausgesprochener Hemmung kräftige Erregungswirkung. Will man mit Papaverin oder Opium ein vollkommenes Versagen des Pilocarpins im Sinne Hirz' erzielen, so muß nach meinen Erfahrungen völlige Lähmung eingetreten und keinerlei rhythmische Bewegung mehr vorhanden sein. Dann erhält man eben bei Papaverin ähnliche Verhältnisse, wie sie Magnus schon bei Atropin im Verhältnis zu Pilocarpin, Muscarin und Physostigmin fand. "Im Anfang der Atropinwirkung wirken sie noch erregend, nach längerer Dauer werden sie unwirksam."



Kurve 8. Strophantin; Papaverin; Pilocarpin.

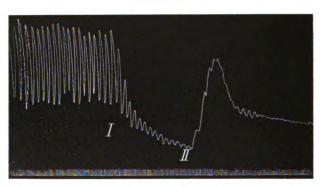
Bei I Zusatz von Strophantin 1:300000, "II " Papaverin 1:300000,

" III " " 1:300000,

" IV " Pilocarpin 1: 37500.

Einen umgekehrten Versuch als mit Papaverin-Pilocarpin führte ich mit Strophantin-Papaverin aus. Hier fügte ich zur Verdünnungsflüssigkeit zuerst Strophantin (1:300 000) und erhielt kräftige Tonuszunahme, anfänglich Vergrößerung der Amplitude, schließlich Dauercontraction, die auf zweimal Papaverin (1:300 000) wieder voller Erschlaffung Platz macht. Zusatz von Pilocarpin (1:40 000) bedingt neuerlichen Anstieg der Kurve. Kurve 8.

Narkotin lähmt den Darm völlig; nach ihm kommt Pilocarpin nicht mehr in maximaler Weise zur Geltung. Hingegen bewirkt das Pilocarpin nach der Thebainlähmung starken Kurvenanstieg. Es würde somit dieses Alkaloid nach der Hirzschen Formulierung analog dem Uzaron sympathicuserregend wirken. Kurve 9.



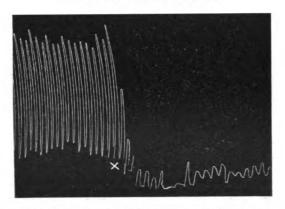
Kurve 9.

Bei I Thebain 1:10000, "II Pilocarpin 1:10000.

Wichtig scheint mir, anschließend an die Uzaraversuche, das Verhalten weiterer Pflanzenextrakte. Ich benutzte zu diesen Versuchen zum Teil Fluidextrakte, nachdem ich mich zunächst versichert hatte, daß die kleine, in diesen Extrakten vorhandene Menge von Alkohol und Glycerin die Normalkurve nicht beeinflußt. Ferner gebrauchte ich wasserlösliche Trockenextrakte und stellte mir schließlich von gewissen Drogen, von denen Extrakte in löslicher Form nicht vorlagen, Extraktlösungen auf folgende Weise her: ich extrahierte zunächst die Rohdroge im Verhältnis von 1:10 oder 1:100 mit einer ganz

schwachen Natrium-Carbonatlösung ungefähr eine halbe Stunde am Rückflußkühler, ließ erkalten und filtrierte. Auf diese Weise gelang es, brauchbare Extrakte zu gewinnen. Bei der großen Verdünnung, in der die alkalischen Lösungen zur Nährlösung hinzugefügt wurden, braucht man eine spezifische Alkaliwirkung (Kali und Natron) nicht zu fürchten. Die Wirkung des Pilocarpins auf extraktgelähmte Darmstücke war nicht einheitlich. Nach der Lähmung durch Extr. Quebracho — übrigens ebenso nach käuflichem Aspidospermin — war die Pilocarpinwirkung gleich Null (Kurve 10 und 11). Sehr schwach war sie auch nach Extr. fluidum Sennae (s. Kurve 17, Seite 255).

Kurve 10. Extr. Quebracho.



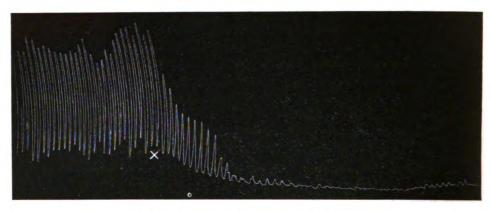
Bei X Zusatz von 0,4 ccm Extr. Quebracho.

Deutlich erregend wirkte Pilocarpin nach dem lähmend wirkenden Extr. Sarsaparillae (Kurve 12), Extr. Galbani und Extr. Zedoariae, ja selbst bei der sehr ausgesprochenen Hemmungswirkung nach Extr. Resinae Pini kam auf Pilocarpin starker Anstieg zustande (Kurve 13).

Ganz besondere Erwähnung verdient hier folgender Fall: die Reaktion Extr. fluidum Condurango-Pilocarpin, deren Kurve eine vollkommene Wiederholung des Uzara-Pilocarpinbildes bedeutet. An der Uzarakurve ist es charakteristisch, daß nach dem Zusatz von Uzara jedesmal zunächst eine energische Erregung folgt, die sehr bald in Lähmung übergeht. Genau so verhält sich Extr. Condurango, und auch bei ihr wirkt Pilo-

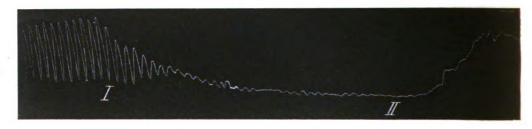
R. Meißner:

Kurve 11. Aspidospermin.



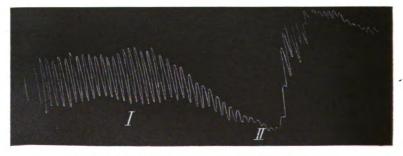
Bei X Zusatz von Aspidospermin Merck.

Kurve 12. Extr. Sarsaparillae.



Bei I Zusatz von 1 ccm Extr. fluid. Sarsaparillae, "II " " Pilocarpin 1:5000.

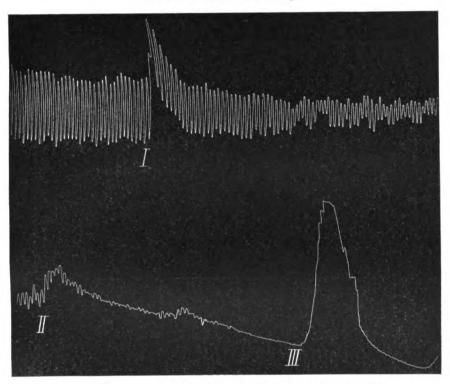
Kurve 13. Resina Pini.



Bei I Zusatz von 0,5 ccm Extr. Res. Pini,
"II " Pilocarpin 1:50000.

carpin äußerst stark erregend auf den vorher gelähmten Darm (Kurve 14).

Kurve 14. Extr. Condurango.



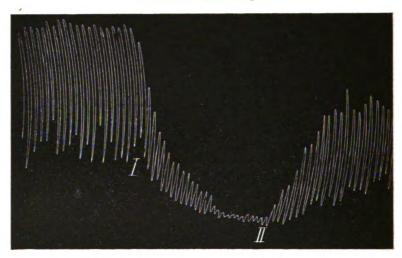
Bei I Zusatz von 1,3 ccm Extr. Condur. aqu. schwach alkal.,

- " II dasselbe,
- " III Zusatz von Pilocarpin 1:25000.

Es war bemerkenswert, daß die zwei aus derselben Familie stammenden Pflanzen fast die gleiche, sehr charakteristische Kurve am isolierten Darm liefern. Beide stammen nämlich von Asclepiadaeen.

Ein weiteres Extrakt, das von Kawa-Kawa, beeinflußte den schreibenden Darm so gut wie gar nicht. Bei den Versuchen über Extr. Condurango konnte ich auch einen isolierten Bestandteil des Fluidextraktes gesondert prüfen, nämlich das von Merck bezogene Glucosid Condurangin. Es zeigte sich hier hinsichtlich der Pilocarpinreaktion dieselbe Übereinstimmung wie bei Extr. Quebracho und Aspidospermin. Bei diesen beiden war die Pilocarpinwirkung minimal, bei Condurangin hingegen ziemlich stark erregend wie bei seinem Fluidextrakt (Kurve 15).

Kurve 15. Condurangin.



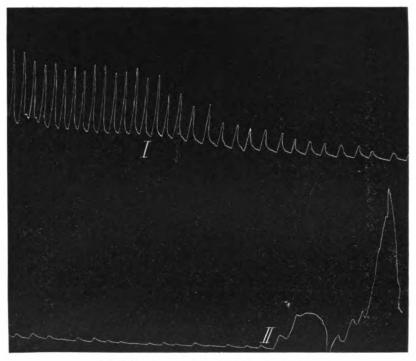
Bei I Zusatz von Condurangin Merck (neutral) 1:10000,

"II " Pilocarpin 1:10000.

Ich begegnete bei weiteren Extraktversuchen nun noch folgender Tatsache. Während einige Pflanzenextrakte von klinisch als Abführmittel verwendeten Drogen indifferent waren, wie z. B. Aloin, oder den Darm wenigstens schwach erregten, wirkten andere in gleicher Art am Menschen wirksame Extrakte bei dieser Methodik gerade entgegengesetzt (!) (Kurve 16, Extr. frangulae; Kurve 17, Extr. Sennae).

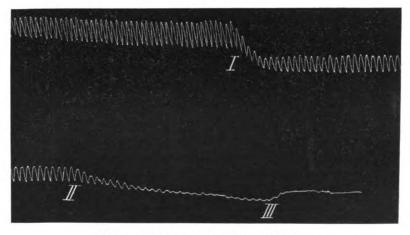
Dasselbe Verhalten — also tonusherabsetzend — zeigte Extr. fluid. Cascarae Sagradae. Pilocarpin hinterher war wirksam.

Nach dieser die Wertschätzung der benutzten Darmmethode sehr einschränkenden Erfahrung versuchte ich auch zwei Öle (Ol. Ricini und Ol. Crotonis). Das gewöhnliche Magnusverfahren ist direkt nicht anzuwenden, da sich die Tyrodelösung mit Öl nicht mischt. Zwei andere Möglichkeiten waren gegeben: einmal Verseifung mit schwacher Natronlösung und Verwendung der Seife und die Prüfung von der Darminnenseite aus. Ich Kurve 16. Extr. Frangulae.



Bei I Zusatz von 0,7 ccm Extr. Frangulae, " II " " Pilocarpin 1:10000.

Kurve 17. Extr. Sennae fl.

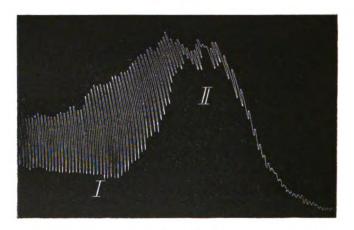


Bei I Zusatz von Extr. Senn. fl. 1 ccm, " II ebenso,

[&]quot; III Zusatz von Pilocarpin 1:5000.

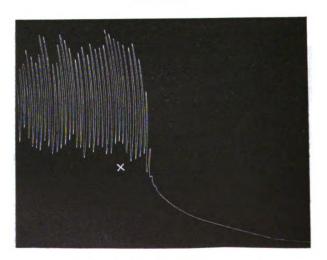
beobachtete nun folgendes: die Crotonölseife reizt, von außen angewendet, den isolierten Darm, die Ricinusölseife hemmt ihn bis zur kompletten Lähmung (Kurve 18 und 19).

Kurve 18.



Bei I Zusatz von 1,0 ccm crotonolsaur. Na, schwach alkal., n II n 0,3 n ricinolsaur. Na, schwach alkal.

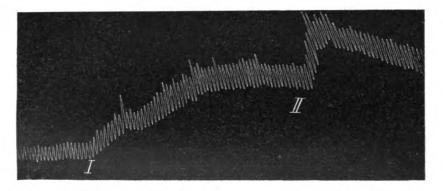
Kurve 19.



Bei X Zusatz von 0,3 ccm ricinolsaur. Na.

Ein Parallelversuch mit ölsaurem Natron ergab ebenfalls Lähmung des Darms 1). Man könnte hiernach diese Hemmung als allgemeine Seifenwirkung ansehen und in der erregenden Wirkung des crotonolsauren Natrons etwas Spezifisches erblicken. Dem stehen aber gewisse Bedenken entgegen. Zunächst ergab ein Versuch mit Ricinusöl von der Darminnenseite auch hier eine Hemmung der Motilität. 20 Minuten nach der Ricinusölzuführung war die Tonussenkung und Amplitudenverkleinerung wahrzunehmen. Dann aber zeigt nachfolgende Kurve 20, daß

Kurve 20.



Seifenlösungen und konzentrierte Natriumcarbonatlösungen darmreizend wirken können (Natrium-Carbonatlösungen 1:500000, wie ich sie in den Extraktversuchen anwendete, beeinflussen die Kurve gar nicht). Diese sonderbaren Befunde lassen mitspielende Fehlerquellen vermuten und mahnen insbesondere bei Extraktversuchen zu größter Vorsicht bei ihrer Deutung.

Ich möchte hier noch eines anderen Versuches Erwähnung tun, der ebenfalls einen scharfen Gegensatz zwischen dem Darm in vivo und nach seiner Isolierung zeigt.

Kaninchen, 1300 g. 4^{30} per os 0,75 g Papaverin.

¹) Notiz bei der Korrektur, März 1916: Zu gleichem Resultat gelangen Guggenheim und Löffler, diese Zeitschr. 72, 320.

Biochemische Zeitschrift Band 73.

448 stärkste Respirationsbeschleunigung; in 5 Sekunden 25 Atemzüge. Das Tier kann sich nur mühsam fortbewegen.

 4^{52} läßt den Kopf tief herabhängen. Sichtbarer Verfall des Tieres.

458 Im Zustand stärkster Vergiftung wird das Tier durch Nackenschlag getötet, die Bauchhöhle geöffnet, die Därme völlig stillstehend gefunden. Zwei Stückchen des Darmes werden nun ohne Verzug zum Darmversuch verwendet. Sie schreiben sofort zuerst ungleichmäßig, später rhythmisch. Zwei andere Stücke werden inzwischen vom Darminhalt befreit, in Tyrodelösung aufbewahrt und etwa nach 3 Minuten am Apparat befestigt. Die beiden letzten Stücke schreiben wie normaler Darm, ohne jede Unregelmäßigkeit, und auf etwas Papaverinzusatz reagieren sie mit starker Hemmung.

Es liegen hier also ähnliche Verhältnisse vor, wie sie in bezug auf Speicherung Neukirch (l. c.) beim Pilocarpin fand.

So außerordentlich überzeugend die von Magnus ausgearbeitete Methode am isolierten Darm wirkt, so wertvoll sie zur physiologischen Prüfung einheitlicher chemischer Stoffe ist, so erfordert sie doch, wie die vorstehenden Beispiele beweisen, bei Arbeiten mit andersartigen Substanzen höchste Vorsicht und Kritik. Zur Analyse eines beliebigen Arzneimittels, das den Darm beeinflußt, ganz besonders eines Extraktes, ist die Prüfung am isolierten Darm nicht ausreichend, sondern es ist stets die Anwendung mehrerer Methoden notwendig. Besonders empfehle ich das Verfahren von Katsch am Bauchfenster, das mir, wie es Hirz zur Prüfung der Uzara auf den Darm in vivo herangezogen hat, auch in vivo den Antagonismus von Papaverin und Pilocarpin sehr gut in Erscheinung treten ließ.

Als Ergebnis meiner Arbeit fasse ich folgende Punkte zusammen:

1. Die Phenanthrenabkömmlinge unter den Opiumalkaloiden wirken am isolierten Darm durchaus nicht einheitlich hauptsächlich lähmend. Eine strenge Scheidung zwischen Phenanthren- und Isochinolinabkömmlingen auf Grund dieser experimentellen Methode ist abzulehnen.

- 2. Bringt man die zu prüfenden Substanzen mit der Innenseite des Darmes in Berührung, so bleibt ihre Wirkung die gleiche, sie tritt bloß später ein.
- 3. Beeinflussung des isolierten Darmes durch gewisse Pflanzenextrakte geht nicht immer ihrer Beeinflussung des lebenden Darmes parallel. Einige Extrakte, die den lebenden Darm erregen, wirken am isolierten lähmend.
- 4. Condurangoextrakt wirkt genau wie Uzaron auf den isolierten Darm.
- 5. Der Darm eines stark mit Papaverin vergifteten Tieres, der im eben getöteten Körper völlige Ruhestellung zeigte, schreibt isoliert wie ein normaler.

Über die Abhängigkeit der Resorption des Kaliumions von der Gegenwart des Natriumions im Organismus der Zuckerrübe.

Von

Julius Stoklasa.

(Aus der Chemisch-physiologischen Versuchsstation an der k. k. böhm. techn. Hochschule Prag.)

(Eingegangen am 15. Dezember 1915.)

Mit 1 Figur im Text.

W. Wolf¹) machte bereits im Jahre 1864 darauf aufmerksam, daß gewisse Pflanzen schon in schwachen Kalium- oder Natriumlösungen zugrunde gehen, daß sie aber eine starke Konzentration von Kalksalzen nicht nur vertragen, sondern, daß diese ihrer Entwicklung sogar zuträglich sind.

Im Jahre 1875 hat unser scharfsinniger Forscher Josef Boehm²) durch seine Experimente nachgewiesen, daß die physiologische Funktion des Kalkes namentlich bei den Leguminosen darin liegt, daß er die giftige Wirkung der Magnesiasalze aufhebt.

In der Algenphysiologie ist nach den Untersuchungen Klebs'3) bekannt, daß plasmolysierende Lösungen von Kaliumnitrat und Natriumchlorid nicht bloß durch Wasserentzug, sondern auch durch spezifische Eigenschaften sohädigen.

Später zeigte True'), daß Lösungen der genannten Salze gar nicht durch osmotische Leistung, wie Klebs annahm, sondern beinahe nur durch spezifische Eigenschaften einen giftigen Einfluß ausüben; er fand

¹⁾ W. Wolf, Die Saussureschen Gesetze der Aufsaugung von einfachen Salzlösungen usw., Landw. Versuchst. 6, 1864.

²) J. Boehm, Über den vegetabilischen Nährwert der Kalksalze. Sitzungsber. d. Wien. Akad. d. Wissensch., mathem.-naturw. Klasse 71. Abt. I, 1875.

³) G. Klebs, Tübinger Untersuchungen 2, 542, 1888.

⁴⁾ R. H. True, Botan. Gaz. 26, 407, 1898.

weiter, daß für Spirogyra Natriumchlorid weniger schädlich als Kaliumnitrat ist, was durch Beneckes Untersuchungen bestätigt wurde.

Bezüglich der Giftwirkung der verschiedenen Salze auf die Phanerogamen stellten auch Liebenberg¹), Stiehr²), Coupin³), Portheim⁴) und Loew⁵) Versuche an.

Liebenbergs spätere Untersuchungen ergaben, daß von den Calciumsalzen das Calciumchlorid nicht die Eigenschaft besitzt, die Giftwirkung der Chloride des Kaliums und Magnesiums zu beseitigen.

Loew ist der Ansicht, daß Natrium und Kalium nicht solche giftige Wirkungen zur Folge haben, wie die Salze von Magnesium. Weiter fand er, daß die Kaliumsalze die Giftwirkung der Magnesiumsalze wohl verzögern können, jedoch nicht gänzlich aufzuheben vermögen.

Nun wären noch die diesbezüglichen Versuche von Raumer⁶), Atterberg⁷), Ulbricht⁶), Rothert⁹) und Micheels¹⁰) zu nennen, die ebenfalls resultierten, daß bei verschiedenartigen Kulturpflanzen die Entgiftung der Wirkung der Magnesiumsalze durch Calciumsalze, mit Ausnahme des Calciumchlorids, hervorgerufen werden kann.

Auf den Antagonismus zwischen den Salzen von Calcium und Magnesium wiesen L. Bernardini und A. Siniscalchi hin. (L. Bernardini e Corso, Intorno all' influenza di vari rapporti fra calce e magnesia sullo sviluppo delle piante. Laboratorio di chimica

¹) A. Ritter v. Liebenberg, Sitzungsber. d. Wien. Akad. d. Wissensch., mathem.-naturw. Klasse, 84, Abt. I, 434, 1881.

²⁾ G. Stiehr, Inaug.-Diss., Kiel 1903.

³⁾ H. Coupin, Rev. gén. d. Bot. 10, 177, 1898.

⁴⁾ L. Ritter v. Portheim, Sitzungsber. d. Wien. Akad. d. Wissensch., mathem.-naturw. Klasse, 110, Abt. I, 113, 1901. — Derselbe und M. Samec, Flora 94, 263, 1905.

b) Loew, Über die physiologischen Funktionen der Calcium- und Magnesiumsalze im Pflanzenorganismus. Flora 1892; Landwirtschaftl. Jahrbücher 1902, 1903, 1905, 1906, 1910, 1912 u. 1914. — Loew und Aso, On physiologically balanced solutions, Bull. coll. of agric. Tokyo, 7, 395, 1907. — Mit der Lösung dieses Problems beschäftigten sich auch Nakamura (Bull. Agric. Exper. Station Tokyo, 1, Nr. 1; landw. Jahrb. 1905); Daikuhara (Bull. Agric. Exper. Station Tokyo, 1, Nr. 1, landw. Jahrb. 1905); sowie Maki und Tanaka (Bull. College of Agriculture, Tokyo, 6).

⁶⁾ E. v. Raumer, Kalk und Magnesia in der Pflanze, Landw. Versuchsstation 29, 1883. — Raumer und Ch. Kellermann, Über die Funktion des Kalkes im Leben der Pflanze, Landw. Versuchsstationen 25, 1880.

²) Atterberg, Svensk. Moork, För. Tidsk. 1891, 121.

b) Ulbricht, Das landw. Versuchswesen in Preußen, 1892, 48; 1893, 43; 1894, 51; 1895, 124.

⁹⁾ W. Rothert, Botan. Zeitg. 64, I. Abt., 43, 1906.

¹⁰⁾ H. Micheels, Compt. rend. de l'Acad. d. Sc., Paris 28. 11. 1906.

agraria, Portici 1907. Ferner L. Bernardini u. A. Siniscalchi, 2. Nota, Portici 1908.) Diese Forscher stellten unter anderem einen Topfversuch mit Lupinen an und gelangten dann zu dem Ergebnis, daß einseitige Zufuhr von Calciumsulfat oder Magnesiumsulfat die Ernte verminderte, gleichzeitige Zufuhr beider Salze aber nicht. Der Boden enthielt bei diesen Versuchen das Verhältnis 2,6 CaO:1 MgO, also nahe das günstigste für Leguminosen.

Mit umfangreichen Studien über die antagonistische Wirkung verschiedener im Meerwasser enthaltenen Salze befaßte sich Jacques Loeb1). Dieser Forscher beobachtete, daß durch eine reine Natriumchloridlösung von der Konzentration, in der dieses Salz im Meerwasser vertreten ist, eine direkt toxische Wirkung auf die in der See lebenden Tiere ausgeübt wird. Zur Entgiftung des Natriumchlorids tragen seiner Meinung nach die übrigen Salze, die im Meere existieren, speziell Kaliumchlorid und Calciumchlorid bei. Diese Tatsachen führten Loeb zur Aufstellung des Begriffes der physiologisch-äquilibrierten Salzlösungen, d. h. von Lösungen, in denen die giftigen Wirkungen, die jedes Salz haben würde, wenn es allein in Lösung wäre, durch ein oder mehrere antagonistische Salze derselben Lösung aufgehoben werden. Im Gegensatz zu den in der Pflanzenphysiologie bekannten Nährlösungen hielt Loeb die physiologisch-äquilibrierten Lösungen für Schutzlösungen. Daß die Giftwirkung der reinen Natriumchloridlösung bei Gegenwart von anderen Stoffen durch die Ausfällung ausbleibt, oder durch die Entstehung von wirksameren oder unwirksameren Verbindungen modifiziert wird, ist wohl schon längst nicht mehr neu, und verweisen wir hier auf die Pflanzenphysiologie von W. Pfeffer²).

Weitere Versuche Loebs³) mit Seeigeleiern ergaben, daß bei der Entgiftung der Chlornatriumlösung auch die Reaktion eine Rolle spielt. Loeb beobachtete bei seinen Experimenten, daß bei einer neutralen oder schwach sauren Reaktion eine Chlornatriumlösung besser durch Kalium als durch Calcium entgiftet wurde, während bei einer alkalischen Reaktion der Chlornatriumlösung die entgiftende Wirkung von Calcium deutlicher war als die von Kalium. In allen Fällen war die entgiftende Wirkung, die durch den Zusatz von Kalium und Calcium zur Chlornatriumlösung hervorgerufen wurde, größer als die Summe der entgiftenden Wirkungen, die stattfinden, wenn die beiden Stoffe einzeln zugefügt wurden. Ein Zusatz von etwas Alkali zu einer neutralen Mischung von Chlornatrium und Chlorkalium machte die Lösung giftiger,

¹⁾ Jacques Loeb, Amer. Journ. of Physiology 3, 327, 1900. — Derselbe, Vorlesungen über die Dynamik der Lebenserscheinungen, Leipzig 1906, 116. — Derselbe, Amer. Journ. of Physiology 6, 411, 1902.

²⁾ Pfeffer, Pflanzenphysiologie 2, 2. Aufl., Leipzig 1904.

³⁾ Jacques Loeb, Über den Einfluß der Konzentration der Hydroxylionen in einer Chlornatriumlösung auf die relative entgiftende Wirkung von K und Ca. Diese Zeitschr. 28, 176, 1910.

während derselbe Zusatz zu einer neutralen Mischung von Chlornatrium und Chlorcalcium die Lösung günstiger machte für die Entwicklung des Seeigeleies.

Versuche Loebs und H. Wastenays1) an Fundulus, der in weiten Grenzen vom osmotischen Druck des umgebenden Mediums unabhängig ist, haben ergeben, daß das Kaliumchlorid in der Konzentration, in der es im Seewasser vorhanden ist, die Fische in wenigen Tagen tötet, wenn es allein in der Lösung ist. Das gleiche gilt für Natriumchlorid. Dagegen leben die Fische beliebig lange in reinen Lösungen von Calciumchlorid und Magnesiumchlorid von der Konzentration, in der diese Salze im Seewasser vorhanden sind. Eine giftige Konzentration von Kaliumchlorid kann durch Zusatz von Natriumchlorid entgiftet werden. Loeb führt den Begriff des Entgiftungskoeffizienten ein und versteht darunter das Verhältnis der Konzentration des giftigen zu derjenigen des antagonistischen Salzes, die eben zur Entgiftung der Lösung ausreicht. Der Entgiftungskoeffizient von Kalium- und Natriumchlorid gibt für eine Reihe von Konzentrationen von Kaliumchlorid einen nahezu konstanten Wert, nämlich $^{1}/_{17}$. Sobald der Wert $\frac{C_{KCl}}{C_{NaCl}} > ^{1}/_{17}$ oder 1/15 wird, geht der Fisch an Kaliumvergiftung zugrunde. Es gibt eine obere Grenze für die Konzentration von Kaliumchlorid, oberhalb deren keine Entgiftung durch Natriumchlorid mehr möglich ist.

Diese Grenze wird erreicht, wenn etwa 6,6 ccm m/g-KCl in 100 ccm der Lösung vorhanden sind. Für die höheren Konzentrationen von Kaliumchlorid, nämlich von 4,4 ccm m/2-KCl bis 5,5 oder 6,6 ccm m/2-KCl in 100 ccm der Lösung, ist der Entgiftungskoeffizient anscheinend ein wenig größer als 1/17, nämlich 1/16 bis 1/15. Wird Natriumsulfat an Stelle von Natriumchlorid zur Entgiftung von Kaliumchlorid angewendet, so zeigt es sich, daß die zur Entgiftung von Kaliumchlorid nötige Konzentration dieses Salzes genau halb so groß ist, wie die erforderliche Konzentration von Natriumchlorid. Benutzt man als giftige Lösung Kaliumsulfat, so läßt sich zeigen, daß die giftige Wirkung dieses Salzes genau zweimal so groß ist wie die einer äquimolekularen Menge von Kaliumchlorid. Aus diesen Tatsachen zieht Loeb den Schluß, daß die giftige Substanz in diesen Versuchen das Kaliumion und die antagonistische das Natriumion ist, und daß der Antagonismus nicht zwischen den Ionen mit entgegengesetzter Ladung, sondern zwischen denen der gleichen Ladung stattfindet, ferner daß die Entgiftung von Kalium durch Natrium etwa dadurch zustande kommt, daß das Kalium- und Natriumion um dasselbe Anion der Oberfläche des Fisches (etwa der Kiemen) konkurrieren, wo dasselbe in begrenzter Menge vorhanden ist. Sobald mehr als 1/17 resp. 1/15 der Zahl dieser Anionen sich mit Kaliumionen verbinden, geht das Tier an Kaliumvergiftung zugrunde. Kleine, aber be-

¹⁾ Jacques Loeb unter Mitwirkung von Hardolph Wastenays. Die Entgiftung von Kaliumsalzen durch Natriumsalze. Diese Zeitschr. 31, 450 bis 477, 1911.

stimmte Mengen von Natriumchlorid erhöhen die giftige Wirkung des Kaliumchlorids. Ein Zusatz von Natriumchlorid zu einer Kaliumchloridlösung beschleunigt nach Loeb¹) die Giftwirkung des Kaliums auf Fundulus, solange weniger als 10 oder 8 Moleküle Natriumchlorid auf ein Molekül Kaliumchlorid in der Lösung sind. Sobald 17 oder mehr Moleküle Natriumchlorid auf ein Molekül von Kaliumchlorid vorhanden sind, tritt die umgekehrte Erscheinung ein, nämlich die Entgiftung des Kaliums. Wie die beiden vorerwähnten Autoren mit Natriumsulfat zeigen, scheint die sensitivierende, wie die entgiftende Wirkung von Natriumchlorid auf Kaliumchlorid vom Natriumion auszugehen. Die Konzentrationen von Natriumchlorid, die imstande sind, die Giftwirkung von Kaliumchlorid zu verstärken, sind an sich völlig ungiftig, da die Fische in denselben beliebig lange leben können.

Loeb und Wastenays2) haben ferner gezeigt, daß eine Chlorkaliumlösung auch durch Calciumchlorid und andere Erdalkalimetalle entgiftet werden kann. Eine Chlorkaliumlösung wird durch Calciumchlorid bereits dann entgiftet, wenn 1/30 Mol. CaCl2 auf 1 Mol. KCl in der Lösung enthalten ist. Oft tritt schon teilweise Entgiftung ein, wenn nur 1/300 Mol. CaCl, auf 1 Mol. KCl in der Lösung entfallen. Während die Grenzkonzentration in der das Chlornatrium eine gegebene Konzentration von Chlorkalium entgiftet, sehr scharf ist, ist dieselbe für Chlorcalcium nicht so scharf. Magnesiumchlorid kann das Kaliumchlorid nur in geringerem Grade und nur für kurze Zeit entgiften, während das Strontiumchlorid einen fast ebenso hohen Entgiftungskoeffizienten hat, wie das Calciumchlorid. Auch Baryumchlorid hat einen hohen Entgiftungskoeffizienten. Die höchste Konzentration von Kaliumchlorid, die durch Calciumchlorid entgiftet werden kann, ist mit der höchsten Konzentration von Kaliumchlorid identisch, die noch zum Entgiften durch Natriumchlorid nötig ist, nämlich 6,6 ccm m/2-KCl in 100 ccm Lösung. Diese Zahl bleibt auch das Maximum, wenn man beide Stoffe Calciumchlorid und Natriumchlorid gleichzeitig zur Entgiftung zufügt.

Während es Loeb und Wastenays³) bei Versuchen mit Fundulus gelang, das Kaliumchlorid in der Konzentration, in der es im Seewasser enthalten ist, durch Natriumchlorid ziemlich vollständig zu entgiften, konnten diese Forscher eine Natriumchloridlösung von der Konzentration, in der dieses Salz im Seewasser enthalten ist, nur sehr unvollständig durch Kaliumchlorid entgiften. Eine vollständige Entgiftung von Na-

¹⁾ Jacques Loeb (mit Hardolph Wastenays), Die Erhöhung der Giftwirkung von Kaliumchlorid durch niedrige Konzentrationen von Natriumchlorid. Diese Zeitschr. 32, 155 bis 163, 1911.

²) Jacques Loeb (mit Hardolph Wastenays), Über die Entgiftung von Kaliumsalzen durch die Salze von Calcium und anderen Erdalkalimetallen. Diese Zeitschr. 32, 308 bis 322, 1911.

³) Jacques Loeb und Hardolph Wastenays, Die Entgiftung von Natriumchlorid durch Kaliumchlorid. Diese Zeitschr. **33**, **4**80 bis 488, 1911.

triumchlorid wurde erst durch Zusatz von Calciumchlorid erreicht. Natriumchloridlösungen, deren Konzentration über $^5/_8$ -Mol. lagen, ließen sich durch Kaliumchlorid nicht mehr entgiften, während man mit Calciumchlorid selbst noch Natriumchloridlösungen von $^7/_8$ -Mol. entgiften konnte. Der Entgiftungskoeffizient NaCl: KCl beträgt 125:250, während der Entgiftungskoeffizient KCl: NaCl $^1/_{16}$ bis $^1/_{17}$ beträgt. Steigt bei normaler Konzentration des Kaliumchlorids der Wert $\frac{C_{\rm KCl}}{C_{\rm NaCl}}$ im Seewasser über $^1/_{15}$, so stirbt der Fisch an Kaliumvergiftung. Fällt bei normaler Konzentration des Natriumchlorids im Seewasser der Wert $\frac{C_{\rm KCl}}{C_{\rm NaCl}}$ unter $^1/_{195}$ resp. $^1/_{250}$, so stirbt das Tier an Natriumvergiftung. Im Seewasser beträgt dieser Wert $^1/_{45}$, liegt also nahezu in der Mitte zwischen den beiden Grenzwerten.

Aus allen bisher mitgeteilten Versuchen schließt Loeb¹), daß eine optimale Schutzwirkung der Salze nur dann eintritt, wenn alle drei Salze NaCl, KCl und CaCl₂ in dem Verhältnis zusammenwirken, in dem dieselben im Seewasser (und im Blute) vorhanden sind, und daß die Schutzwirkung oder die antagonistische Wirkung auf einer kombinierten "Gerbwirkung" der Salze auf eine kolloidale Substanz, die vermutlich in der Mikropyle vom Fundulusei liegt, beruht.

In der neuesten Arbeit: "Die Abhängigkeit der relativen Giftigkeit von Natrium und Calcium von der Natur des Anions" gelangt Loeb²) zu folgenden Resultaten:

- 1. Während allgemein angenommen wird, daß die Giftigkeit eines Salzes eine additive Funktion seiner Ionen ist, wird in dieser Arbeit gezeigt, daß sich die relative Giftigkeit von Na und Ca und von Na und Mg auf Fundulus mit der Natur des Anions ändert. Natriumchlorid ist nicht so giftig wie Calciumchlorid oder Magnesiumchlorid; für eine Reihe von Anionen aber, nämlich Br und SO₄ ist Ca resp. Mg weniger giftig als Na.
- 2. Die relative Giftigkeit der Ionen ändert sich mit der Konzentration derselben, z. B. in niedriger Konzentration ist die schützende Kraft von Ca größer als die von Na, während von einer gewissen Konzentration an Na weniger schädlich ist als Ca. Ist nun das Anion so giftig, daß alle Versuche sich in relativ niedrigen Konzentrationen der Salze bewegen müssen, so ist das Calciumsalz immer weniger giftig als das Natriumsalz desselben Anions. Ist aber das Anion sehr ungiftig, (z. B. Cl), so daß die Versuche sich in relativ hohen Konzentrationen abspielen, so macht sich der Umstand geltend, daß Na in höheren Konzentrationen weniger schädlich ist als Ca. Der Einfluß der Konzentration dürfte mit dem Einflusse der Salze auf die Oberflächenlamelle zusammenhängen.

¹) Jacques Loeb, Über den Mechanismus der antagonistischen Salzwirkungen. Diese Zeitschr. **36**, 275 bis 279, 1911.

²) Loeb, Diese Zeitschr. 39, 194 bis 199, 1912.

Ferner sind auch Beneckes¹) Untersuchungen erwähnenswert, der folgende Anschauung vertritt:

"Während Spirogyren, wie bekannt, in geeigneten vollständigen Mineralsalznährlösungen üppig gedeihen, sind sie gegen die einzelnen Komponenten derselben, außer gegen die Calciumsalze, auffallend empfindlich. Die Chloride, Nitrate, Sulfate und Phosphate des Natriums, Kaliums, Magnesiums, Eisens sind mehr oder minder giftig, und zwar sind von den genannten Kationen Eisen und Magnesium giftiger als Kalium, dieses giftiger als Natrium; von den genannten Anionen sind die Phosphat-, Sulfat- und Nitrat-Anionen giftiger als das Chlorion. Die Giftigkeit aller dieser Ionen, Anionen als auch Kationen, kann durch Beigabe des Ions Calcium aufgehoben oder doch vermindert werden."

Osterhout²) machte Untersuchungen über die Übereinstimmung der Salzwirkungen bei Tieren und Pflanzen. Es ist dies eine Fortsetzung seiner bekannten Untersuchungen über die antagonistische Wirkung von Salzen auf die Pflanze. Er beschäftigte sich neuerdings mit der Lösung der Frage, ob die Natriumsalze imstande sind, die schädliche Wirkung anderer Salze auf die Pflanze herabzusetzen. Es wurde geprüft, in welcher Weise einerseits die reine Natriumchloridlösung, anderseits ein Gemisch von Natriumchlorid und Kaliumchlorid, bzw. Ammoniumchlorid, bzw. Magnesiumchlorid, bzw. Calciumchlorid auf das Wachstum der Wurzeln und der Blätter von Weizenkeimlingen wirkt. Osterhout experimentierte hauptsächlichst mit Weizen (Early Genesee) und beobachtete während 30 Tagen das totale Längenwachstum der Wurzeln einer Pflanze.

Er stellte aber auch noch mit anderen Phanerogamen, wie Allium, Helianthus, Zea, Pisum, Beta, Alopecurus, Linum, Lupinus, Vicia, Raphanus, Trifolium, Medicago Versuche an, doch hat er die Ergebnisse seiner Beobachtungen bezüglich des Längenwachstums dieser Wurzeln in seinen Arbeiten nicht reproduziert.

Osterhouts Versuche ergaben, daß ein vollständiger Antagonismus zwischen Natrium und Kalium, bzw. Natrium und

¹⁾ W. Benecke, Über die Giftwirkung verschiedener Salze auf Spirogyra und ihre Entgiftung durch Calciumsalze. Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 25, 1907.

²) W. J. V. Osterhout, Weitere Untersuchungen über die Übereinstimmung der Salzwirkungen bei Tieren und Pflanzen: Die Schutzwirkung des Natriums für Pflanzen. Jahrb. f. wissenschafl. Botan. 46, Heft II, 1908.

Magnesium, bzw. Natrium und Calcium besteht; ferner, daß sich die giftige Wirkung von Kaliumsalzen auch durch Chlornatrium hemmen läßt. Eine reine Natriumchlorid- oder Kaliumchloridlösung ist giftig; in bestimmten Gemischen von beiden können die Wurzeln eine 3 mal so große Länge erreichen als in den reinen Lösungen. Dieser Autor ist der Ansicht, daß die Wirkung des Natriums bei Pflanzen nur als Schutzwirkung aufzufassen sei, was auch bei den Tieren der Fall zu sein scheint. Nach ihm hat also das Natrium als Nährstoff für die Pflanze keinen Wert, er sieht vielmehr in dem Element Natrium eine Schutzwirkung bei der Assimilation anderer Nährstoffe.

Von großem Interesse ist, daß Osterhout alle Versuche mit Nitraten an Stelle der Chloride wiederholte und die Versuche außerdem auf andere Pflanzen (Beta vulgaris, Linum usitatissimum, Vicia sp. und Medicago denticulata) ausgedehnt hat. Dabei erhielt er ganz ähnliche Resultate wie bei den Chloriden. Später konnte er den gleichen Nachweis durch Bodenversuche erbringen. Da die Übereinstimmung zwischen der Wasser- und Bodenkultur eine so vollkommene ist, nimmt er an, daß die antagonistischen Wirkungen auch im Boden eine bedeutende Rolle spielen¹).

Osterhout führte die Versuchsergebnisse nicht auf eine Kombination der Salze (etwa Doppelsalzbildung) zurück, sondern auf eine Verbindung der Salze mit irgendeinem Bestandteile der lebenden Substanz. Er kommt zu derselben Ansicht wie die übrigen Forscher, daß man nämlich mit Loeb annehmen kann, daß normales Leben nur dann möglich ist, wenn sich die nötigen Salze mit den Kolloiden der lebendigen Substanz in ganz bestimmtem Verhältnis kombinieren, und daß sich dieses Verhältnis bei jeder Abweichung in der Zusammensetzung der Außenlösung (dem Massenwirkungsgesetze folgend) verändern muß.

Schon vor 15 Jahren hat Stoklasa nach gründlichem

¹⁾ Es ist nur zu bedauern, daß Osterhout das Verfahren bei seinen Bodenversuchen, sowie bei den Experimenten mit Pflanzen unter Benutzung von Nitraten an Stelle der Chloride in seinen Arbeiten nicht näher angibt.

Studium der Arbeiten von Loeb¹) und Osterhout²) erkannt, welche große Wichtigkeit diese Forschungen besitzen, und hat auch selbst neue Versuche angestellt, jedoch nicht in der Weise, wie dies von Osterhout²) und Duggar³) geschah.

Gegen Osterhouts Versuche läßt sich sehr vieles einwenden und zwar:

- 1. Wie ich bereits hervorgehoben habe, hat er das Längenwachstum der anderen Pflanzen nicht angeführt, sondern bloß das von Weizen.
- 2. Vermissen wir auch die näheren Angaben seiner Bodenversuche.
- 3. Wäre sehr interessant, zu erfahren, wie sich die Nitrate gegeneinander verhalten. Leider spricht sich der Autor auch darüber nicht näher aus.

Der größte Fehler bei diesen ganzen Untersuchungen ist entschieden der, daß Osterhout bloß das Längenwachstum einer Pflanze während 30 Tagen beobachtete. Es ist zweifellos nötig, außer diesen Messungen auch das Gewicht der Trockensubstanz der Wurzeln, sowie des ganzen oberirdischen Teiles, also der Stengel, Blätter usw. genau festzustellen. Wie leicht man sich bei der Beobachtung des Längenwachstums der Wurzeln einer Pflanze täuschen kann, dokumentieren nachstehende Experimente.

Unsere Wasserkulturversuche mit Zeamais, gezüchtet in einer Nährlösung, woselbst kein Phosphor vorhanden war, haben folgendes ergeben:

Nach 90 Vegetationstagen betrug die Länge der Wurzeln

¹⁾ Loeb, Amer. Journ. of Physiol. 3, 327, 383, 1900; 6, 411, 1902; Stud. Gen. Physiol. 2, 551 bis 554, 568 bis 572, 720 bis 721. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 88, 95, 1901; 97, 394, 1903. — Derselbe, Vorlesungen über die Dynamik der Lebenserscheinungen, Leipzig 1906, S. 116.

²) W. J. V. Osterhout, Journ. of Biolog. Chem. 1, 363, 1906; Botan. Gaz. 42, 127, 1906; 44, 259, 1907; 45, 117, 1908; University of California Publications Botany 2, 317, 1907. — Derselbe, Weitere Untersuchungen über die Übereinstimmung der Salzwirkungen bei Tieren und Pflanzen. Die Schutzwirkung des Natriums für Pflanzen, Jahrb. f. wissenschaftl. Botan. 46, Heft II, 1908.

³⁾ M. B. Duggar, Trans. of the Ac. of Sc. of St. Louis 16, 473, 1906.

35—46 cm, das Gewicht der Trockensubstanz der Wurzeln 0,123—0,29 g. In einer Nährlösung, wo alle Nährstoffe vertreten waren, bezifferte sich die Länge der Wurzeln innerhalb der gleichen Zeit auf 42—54 cm, das Trockensubstanzgewicht der Wurzeln auf 9—15 g.

Als wir weitere Versuche mit Weizen, also mit derselben Pflanze wie dies Osterhout tat, anstellten, belief sich nach 60 Vegetationstagen die Länge der Wurzeln bei den Kulturen, die in einem Nährmedium, wo kein Phosphor zugegen war, gewachsen sind, auf 32 cm, das Trockensubstanzgewicht der Wurzeln auf 0,046 g.

In der Nährlösung, wo alle Nährstoffe anwesend waren, betrug die Länge der Wurzeln während derselben Zeit 42 cm, das Trockensubstanzgewicht der Wurzeln 0,638 g.

Ich könnte noch mehrere Beispiele aus unseren Studien über die physiologische Wirkung des Phosphors, Magnesiums und Kaliums auf die Entwicklung des Wurzelsystems der Halmfrüchte anführen, woselbst wir stets konstatieren konnten, daß für den quantitativen Aufbau der Wurzeln das Messen nicht maßgebend ist, da die Wurzeln manchmal ganz dünn. aber sehr lang sind.

Bevor ich zu meinen eigenen Versuchen trete, führe ich noch die Studienergebnisse aus neuester Zeit von Hansteen, Robert und Krüger an.

Studienergebnisse über das Verhalten der Kulturpflanzen zu den Bodensalzen publizierte B. Hansteen 1).

Dieser Forscher hat in erster Linie versucht, durch zahlreiche Kulturen das quantitative Verhältnis zwischen Kalium und Calcium festzustellen, durch das nicht allein die Giftwirkungen des Kaliums völlig aufgehoben werden, sondern auch das für die Kulturpflanzen günstigste Zusammenwirken dieser beiden Nährstoffe erreicht wird. Dabei benutzte er durchgehends nur relativ schwach konzentrierte Kulturlösungen und auch Salze mit verschiedenen Säureionen. Hansteen fand, daß der Angriff zuerst an solchen Organen erfolgt, die mit der Lösung in unmittelbarem Kontakt sind, also an den Wurzeln, die auch deshalb die Reaktion auf den Angriff am reinsten zu erkennen geben.

Ferner erfolgt nach seiner Ansicht zuerst der Angriff bei Wurzeln

¹⁾ B. Hansteen, Über das Verhalten der Kulturpflanzen zu den Bodensalzen. Jahrb. f. wissenschaftl. Botan. 47, Heft 3, 1910.

sowie bei Stengeln, nicht an solchen Stellen, die besonders zahlreiche und große Zellkerne führen, also an den embryonalen Geweben der Vegetationspunkte, sondern an solchen Stellen, wo das ausgiebigste Flächenwachstum der Wände der neugebildeten Zellen stattfindet, also an den Streckungszonen. Der Angriff verursacht deshalb auch einen Stillstand oder eine Verzögerung im Längenwachstum der genannten Organe.

An der Streckungszone führt nach dem vorerwähnten Autor der Angriff zu einer Auflösung der Zellwände, die bei den Wurzeln — wegen des unmittelbaren Kontaktes dieser Organe mit dem schädlichen Außenmedium — allmählich von außen nach innen, bei den Stengeln dagegen — wegen der inneren Zufuhr der schädlichen Flüssigkeit — von innen nach außen fortschreitet. Auch breitet sie sich nach oben und unten aus; lösen sich die Zellwände anderer Gewebe nicht auf, so quellen sie doch abnorm; Zellen und Zellreihen trennen sich voneinander, die nackt gewordenen Zellkörper zerplatzen und die Gewebe bilden zuletzt mehr und mehr eine schleimige, strukturlose Masse.

Der Angriff tritt immer lokalisiert auf, d. h. nur an solchen Stellen der Wurzeln, die in unmittelbarem Kontakt mit der schädlichen Flüssigkeit sind. Von dieser nicht berührte Wurzelteile werden — selbst wenn sie den ersteren direkt benachbart sind — nicht angegriffen.

Mit Studien über den Antagonismus der Calciumsalze gegenüber den übrigen Salzen der Nährlösung befaßte sich auch C. Robert¹) und beobachtete bei Versuchen mit Erbse und Lupine in Wasserkulturen, daß Keimlinge, die auf destilliertem Wasser zu keimen begonnen hatten, ihr Wachstum in einer Lösung von $0.25\,^{\circ}/_{00}\,\mathrm{MgSO_4} + 0.5\,^{\circ}/_{00}\,\mathrm{KH_2\,PO_4} + 0.5\,^{\circ}/_{00}\,\mathrm{NH_4\,NO_3}$ sistierten. Nach Zugabe einer genügenden Menge eines Ca-Salzes entwickelten sich die Pflänzchen weiter. Bei diesen Versuchen konnte Robert ferner konstatieren, daß eine $0.5\,^{\circ}/_{00}$ ige CaSO₄-Lösung, ohne selbst giftig zu sein, gegenüber den Salzen Mg, K und NH₄, die in den verwendeten Konzentrationen toxisch wirkten, entgiftende Wirkung ausübt. Diese entgiftende Funktion des Ca zeigte sich auch gegenüber den im gewöhnlichen destillierten Wasser vorhandenen Spuren von Cu.

In der neuesten Zeit wären schließlich die bereits ausführlich erwähnten Versuche von Krüger²) zu nennen, bei denen die Wahrnehmung gemacht wurde, daß das Natrium die Kaliumaufnahme bei der Zuckerrübe erleichtert und vergrößert.

¹) C. Robert, Entgiftende Rolle des Calciums gegenüber einigen Nährsalzen in den flüssigen Kulturen von Erbse und Lupine. Compt. rend. 156, 915 bis 918, 1913.

²⁾ Krüger, Kann das Natron das Kali ganz oder teilweise bei der Ernährung der Zuckerrübe ersetzen? Vortrag gehalten in der Generalversammlung des Vereines der Deutschen Zuckerindustrie am 27. Mai 1914 in Dresden. Die deutsche Zuckerindustrie 39, H. 47, 951.

Um uns über die Wirkung der Chloride von Kalium und Natrium näher zu informieren, führten wir einige Reihen von Versuchen aus. Die Salzlösungen wurden unmittelbar vor der Saat in die einzelnen Vegetationsgefäße hineingegeben.

1. Versuchsreihe.

Jede Versuchsgruppe bestand aus 5 Vegetationsgefäßen. Jedes Vegetationsgefäß erhielt vor der Einsaat 11 reinen destillierten Wassers.

- Die I. Gruppe verblieb ohne Kalium- und Natriumchloridzusatz.
- II. Gruppe: Jedes dieser Gefäße bekam 5,85 g Natriumchlorid (1/10 Molekulargewicht), gelöst in 11 reinem destillierten Wasser.
- III. Gruppe: Jedes der Vegetationsgefäße empfing 7,46 g Kaliumchlorid ($^1/_{10}$ Molekulargewicht), gelöst in 1 l reinem destillierten Wasser.
- IV. Gruppe: Jeder dieser Töpfe erhielt 11,7 g Natrium-chlorid ($^2/_{10}$ Molekulargewicht), gelöst in 1 l reinem destillierten Wasser.
- V. Gruppe: Jedes der Vegetationsgefäße empfing 14,92 g Kaliumchlorid ($^2/_{10}$ Molekulargewicht), gelöst in 11 reinem destillierten Wasser.
- VI. Gruppe: Jeder dieser Töpfe erhielt 22,38 g Kalium-chlorid (³/₁₀ Molekulargewicht), gelöst in 1 l reinem destillierten Wasser.
- VII. Gruppe: Jedes Vegetationsgefäß empfing 7,46 g Kaliumchlorid ($^1/_{10}$ Molekulargewicht) und 5,85 g Natriumchlorid ($^1/_{10}$ Molekulargewicht), gelöst in 1 l reinem destillierten Wasser.
- VIII. Gruppe: Jeder dieser Töpfe bekam 14,92 g Kaliumchlorid ($^2/_{10}$ Molekulargewicht) und 11,7 g Natriumchlorid ($^2/_{10}$ Molekulargewicht), gelöst in 1 l reinem destillierten Wasser.
- IX. Gruppe: Jedes dieser Vegetationsgefäße empfing 22,38 g Kaliumehlorid ($^3/_{10}$ Molekulargewicht) und 11,7 g Natriumehlorid ($^2/_{10}$ Molekulargewicht), gelöst in 1 l reinem destillierten Wasser.

In jedem Vegetationsgefäß befanden sich 18 kg eines gleichartigen Bodens. Letzterer war ein Gemisch, bestehend

aus $80^{0}/_{0}$ Sand und $20^{0}/_{0}$ fein durchgesiebtem Torf. Die Vegetationsgefäße waren aus glasiertem Ton hergestellt.

Diese Experimente wurden in einem Glashause durchgeführt, in dem auf (Eisenbahn-)Schienen bewegliche kleine Rollwagen vorhanden waren, welche die Vegetationsgefäße trugen.

Bei günstigem Wetter wurden die loryartigen Wagen mit den Vegetationsgefäßen in einen unmittelbar an das Glashaus sich anschließenden Raum, der zum Zwecke des Schutzes vor allerlei Schädlingen allseitig von Wänden aus dichtem Drahtgeflecht abgeschlossen ist, herausgefahren.

In der Nähe des Bodens war jedes dieser zylindrischen Gefäße mit einer seitlichen Öffnung versehen, die einen einmal gebohrten Stopfen trug, in dessen Bohrung eine im rechten Winkel gebogene Glasröhre steckte. Der eine Arm der Röhre war nach aufwärts gerichtet. Dieser nach aufwärts gerichtete Röhrenteil diente gewissermaßen als Wasserstandsrohr. In dem Falle nämlich, als sich im Vegetationsgefäße ein Überschuß an Wasser zeigte, wurde dasselbe durch einfaches Drehen des (nach aufwärts gerichteten) Röhrenwinkels nach abwärts abgelassen, die abgelassene Flüssigkeit jedoch abermals zum Begießen der Pflanzen in demselben Vegetationsgefäße benutzt, so daß von den Nährstoffen nichts in Verlust geriet.

Als Versuchsobjekt diente Wohankas "ertragsreiche" Zuckerrübe, und zwar wurde in jedem Vegetationstopf eine Rübe angebaut. Wir haben zu unseren Versuchen deshalb die Zuckerrübe gewählt, weil sie als eine halophyte Pflanze bekannt ist und eine verhältnismäßig große Menge Kalium-sowie Natriumion aus dem Boden resorbiert.

Die Samenknäuel, die zum Anbau benützt wurden, waren alle von gleichem Gewicht. Dieselben wurden 12 Stunden in Wasser geweicht und dann gesäet. Die Aussaat erfolgte am 10. April. Die Gefäße wurden vor Regen geschützt, jedoch jeden Tag regelmäßig begossen und zwar jedes derselben auf die Art, daß vom Anfange der Versuche bis zur Ernte stets $20^{\,0}/_{\!0}$ Wasser im Boden vorhanden waren. Im Verlaufe der Vegetation wurden in den einzelnen Gruppen auch die Differenzen in der Entwicklung der Zuckerrübe beobachtet. Während der ganzen Vegetation wurde ferner darauf gesehen, daß keinerlei

Abhängigkeit d. Res	orption des B	₹ v. d.	Gegenw. d.	. Na im	Organismus.	273
---------------------	---------------	---------	------------	---------	-------------	-----

Parasiteninvasionen eintraten. Die Ernte wurde zwischen 2. und 5. September vorgenommen. Die Wurzeln der Rübe wurden sorgfältig von dem Boden befreit und mit Wasser gewaschen, so daß so gut als möglich ein genaues Wurzelgewicht festgestellt werden konnte. Der Ertrag der einzelnen Gefäße verschiedenartiger Gruppen ist in nachstehender Übersicht veranschaulicht.

Gruppe I.

A A		
Anzahl der Rüben von 5 Vegetationsgefäßen	5	Stück
Durchschnittliches Gewicht der frischen Wurzeln		
einer Zuckerrübe	99,3	g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz der		
Wurzeln einer Rübe		_
Durchschnittlicher Zuckergehalt der frischen Rübe	9,60	%
Durchschnittlicher Zuckergehalt der Trockensub-		. •
stanz der Rübe	41,92	°/0
Durchschnittliches Gewicht der frischen Blattsub-		
stanz einer Rübe	98,50	g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz		
der Blätter einer Rübe	23,40	g
Gruppe II.		
Anzahl der Rüben von 5 Vegetationsgefäßen	5	Stück
Durchschnittliches Gewicht der frischen Wurzeln		
einer Zuckerrübe	115 Q	œ
Durschnittliches Gewicht der Trockensubstanz der	110,0	Б
Wurzeln einer Rübe		_
Durchschnittlicher Zuckergehalt der frischen Rübe	10,80	°/ ₀
Durchschnittlicher Zuckergehalt der Trockensub-		
stanz der Rübe	48,36	0/0
Durchschnittliches Gewicht der frischen Blattsub-	.,-	70
stanz einer Rübe	199 30	œ
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz	122,00	В
der Blätter einer Rübe	27,20	g
Gruppe III.		
	E	Stück
Anzahl der Rüben von 5 Vegetationsgefäßen	Ð	Bluck
Durchschnittliches Gewicht der frischen Wurzeln		
einer Zuckerrübe	152,7	g
Biochemische Zeitschrift Band 78.	18	

Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz		
der Wurzeln einer Rübe	34,7	g
Durchschnittlicher Zuckergehalt der frischen Rübe	13,5	0/6
Durchschnittlicher Zuckergehalt der Trockensub-		
stanz der Rübe	59.4	0/0
Durchschnittliches Gewicht der frischen Blattsub-	•	10
stanz einer Rübe	158.6	Ø
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz	,_	6
der Blätter einer Rübe	34.3	σ
dor passor oner reads	01,0	•
Gruppe IV.		
Anzahl der Rüben von 5 Vegetationsgefäßen	E	Stii ale
Durchschittliches Gewicht der frischen Wurzeln	ð	BUUCK
	00.7	_
einer Zuckerrübe	98,7	g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz	000	
der Wurzeln einer Rübe		-
Durchschnittlicher Zuckergehalt der frischen Rübe	10,2	⁰ / ₀
Durchschnittlicher Zuckergehalt der Trockensub-		•
stanz der Rübe	42,3	%
Durchschnittliches Gewicht der frischen Blattsub-		
stanz einer Rübe	108,4	g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz		
der Blätter einer Rübe	24,3	g
Gruppe V.		
Anzahl der Rüben von 5 Vegetationsgefäßen	5	Stück
Durchschnittliches Gewicht der frischen Wurzeln		
einer Zuckerrübe	140,8	g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz	•	Ū
der Wurzeln einer Rübe	30.9	g
Durchschnittlicher Zuckergehalt der frischen Rübe	-	_
Durchschnittlicher Zuckergehalt der Trockensub-	,_	10
stanz der Rübe	56.06	0/2
Durchschnittliches Gewicht der frischen Blattsub-	,50	10
stanz einer Rübe	156.0	Ø
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz	,-	9
der Blätter einer Rübe	35,20) σ
	,	•

Gruppe VI.

Gruppe vi.		
Anzahl der Rüben von 5 Vegetationsgefäßen	5	Stück
Durchschnittliches Gewicht der frischen Wurzeln		
einer Zuckerrübe	75,3	g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz		
der Wurzeln einer Rübe		_
Durchschnittlicher Zuckergehalt der frischen Rübe	12,2	°/ ₀
Durchschnittlicher Zuckergehalt der Trockensub-		
stanz einer Rübe	55,35	° / ₀
Durchschnittliches Gewicht der frischen Blattsub-		
stanz einer Rübe	82,8	g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz		
der Blätter einer Rübe	18,2	g
Gruppe VII.		
Anzahl der Rüben von 5 Vegetationsgefäßen	5	Stück
Durchschnittliches Gewicht der frischen Wurzeln		
einer Zuckerrübe	178,5	g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz		
der Wurzeln einer Rübe	40,2	g
Durchschnittlicher Zuckergehalt der frischen Rübe	14,3	%
Durchschnittlicher Zuckergehalt der Trockensub-		
stanz der Rübe	63,49	°/0
Durchschnittliches Gewicht der frischen Blattsub-		
stanz einer Rübe	172,70	g
Durchschnittliches Gewicht der Trochensubstanz		
der Blätter einer Rübe	40,80	g
Gruppe VIII.		
Anzahl der Rüben von 5 Vegetationsgefäßen	5	Stück
Durchschnittliches Gewicht der frischen Wurzeln		
einer Zuckerrübe	184,0	g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz		
der Wurzeln einer Rübe	42,3	g
Durchschnittlicher Zuckergehalt der frischen Rübe		
Durchschnittlicher Zuckergehalt der Trockensub-	-	. •
stanz der Rübe	59,18	0/0
Durchschnittliches Gewicht der frischen Blattsub-	•	
stanz einer Rübe	160,2	g
	18*	

Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz	
der Blätter einer Rübe	g
Gruppe IX.	
Anzahl der Rüben von 5 Vegetationsgefäßen 5	Stück
Durchschnittliches Gewicht der frischen Wurzeln	
einer Zuckerrübe	g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz	
der Wurzeln einer Rübe 25,2	g
Durchschnittlicher Zuckergehalt der frischen Rübe 13,3	°/0
Durchschnittlicher Zuckergehalt der Trockensub-	
stanz der Rübe	°/0
Durchschnittliches Gewicht der frischen Blattsub-	
stanz einer Rübe	g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz	
der Blätter einer Rübe 26,6	g

Lenken wir nun unser Augenmerk auf die Resultate unserer Untersuchungen, so ersehen wir, daß bei der Versuchsgruppe I, wo keine Chloride angewendet wurden, durchschnittlich 46,14 g Gesamttrockensubstanz einer Rübe und zwar des ober- und unterirdischen Teiles geerntet wurden. Der Zuckergehalt der Trockensubstanz der Wurzeln einer Rübe belief sich auf 41,92%.

Bei Anwendung von 5,85 g Natriumchlorid ($^1/_{10}$ Molekulargewicht II. Gruppe) stieg das Gesamttrockensubstanzgewicht eines ganzen Rübenkörpers, also der Wurzeln und der Blattsubstanz, schon auf 53,06 g, der Zukkergehalt der Trockensubstanz der Wurzeln einer Rübe auf $48,36\,^0/_0$.

Als 7,46 g Kaliumchlorid (1/10 Molekulargewicht) (Gruppe III) zur Benutzung kamen, stieg das Gesamttrockensubstanzgewicht der Wurzeln und der Blattsubstanz einer Rübe auf 69 g, war also um 22,86 g oder 49,5 0/0 größer als dort, wo keine Chloride zur Benutzung kamen. Der Zuckergehalt der Trockensubstanz der Wurzeln einer Rübe stieg auf 59,4 0/0; gegenüber dem Gesamttrockensubstanzgewicht bei Gruppe II, woselbst Natriumchlorid verwendet wurde, ergab sich hier, wo

Kaliumchlorid angewendet wurde, pro 1 Rübe ein Plus von 15,94 g oder $30^{\circ}/_{\circ}$. Die Differenz im Zuckergehalt betrug $11,04^{\circ}/_{\circ}$.

Hier ist deutlich ersichtlich, daß das Kaliumion nicht nur auf eine energische Bildung von Pflanzenmaterie, sondern auch auf die Anreicherung des Zuckers in der Wurzel der Zuckerrübe eine spezifische Wirkung ausübt.

Bei Gruppe IV, woselbst 11,7 g Natriumchlorid (²/₁₀ Molekulargewicht) benutzt wurden, merken wir schon gegen jenen Gruppen, wo bloß ¹/₁₀ Molekulargewicht Kalium- und Natriumchlorid angewendet wurden, einen Rückgang in der Entwicklung der Zuckerrübe, sowie auch im Zuckergehalt. Das Gesamttrockensubstanzgewicht eines ganzen Rübenorganismus belief sich auf 48,1 g, der Zuckergehalt der Trockensubstanz der Wurzeln einer Rübe auf 42,3 ⁰/₀. Hier machte sich schon der schädliche Einfluß einer größeren Menge von Natriumchlorid bemerkbar.

Bei Gruppe V, woselbst 14,92 g Kaliumchlorid $(^2/_{10}$ Molekulargewicht) zur Anwendung gelangten, blieb die Rübe in ihrer Entwicklung zufälligerweise fast konstant wie bei Benutzung von $^1/_{10}$ Molekulargewicht von Kaliumchlorid. Das Gesamttrockensubstanzgewicht einer ganzen Rübe betrug 66,1 g, der Zuckergehalt der Trockensubstanz der Wurzeln einer Rübe 56,06 $^0/_0$.

Wo 22,38 g Kaliumchlorid (⁸/₁₀ Molekulargewicht) (Gruppe VI) benutzt wurden, konnten wir ebenfalls einen Rückgang des ganzen Rübenkörpers, sowohl des unter- als auch des oberirdischen Teiles wahrnehmen. Hier bezifferte sich das Gesamtgewicht der Trockensubstanz der Pflanzenmaterie einer Rübe auf 34,8 g, der Zuckergehalt der Trockensubstanz der Wurzeln einer Rübe auf 55,35 °/₀; letztere blieb merkwürdigerweise wie bei Anwendung von ¹/₁₀- und ²/₁₀ Molekulargewicht von Kaliumchlorid fast unverändert. Die schädliche Wirkung von ungewöhnlich großen Mengen Kaliumchlorids äußerte sich hier in einer Depression auf das Gesamttrockensubstanzgewicht, infolgedessen auch auf

die Gesamtmenge des gebildeten Zuckers, hat aber keinen Einfluß auf den Zuckergehalt der Rübenwurzeln ausgeübt.

Äußerst günstige Verhältnisse für die Entwicklung des Zuckerrübenorganismus traten bei Gruppe VII ein, woselbst 7,46 g Kaliumchlorid (1/10 Molekulargewicht) und 5,85 g Natriumchlorid (1/10 Molekulargewicht) verwendet wurden. Hier belief sich das Gesamt-Trockensubstanzgewicht einer ganzen Rübe auf 81 g. war also gegenüber den Vegetationen, wo bloß 1/10 Molekulargewicht von Natriumchlorid (Gruppe II) benutzt wurde, um 27,94 g oder um 52,6°/o pro Rübe größer. Der Ertrag der Vegetationen dieser Gruppe, wo beide Salze in Anwendung kamen, übertrifft bedeutend das Erträgnis bei Gruppe III, wo bloß je 1/10 Molekulargewicht von Kaliumchlorid benutzt wurde. Wir finden eine Differenz im Gesamt-Trockensubstanzgewicht von 12 g oder 17,3%. Der Zuckergehalt der Trockensubstanz der Wurzeln betrug 63,49%. Dies war demnach der größte Zuckergehalt von allen bisher beobachteten Zuckerrübenwurzeln. Im Vergleiche zu der Vegetation (Gruppe I) ist sie um 21,57 g oder 51,4% reicher an Zucker; gegenüber der, wo 1/10 Molekulargewicht von Natriumchlorid angewendet wurde (Gruppe II), beträgt hier das Mehrerträgnis an Zucker 15,13 g oder 31,39% und gegenüber der, wo 1/10 Molekulargewicht von Kaliumchlorid (Gruppe III) benutzt wurde, 4,09 g oder 6,9%.

Bei der VIII. Gruppe, bei der 11,7g Natriumchlorid (2/10 Molekulargewicht) und 14,92 g Kaliumchlorid (3/10 Molekulargewicht) verwendet wurden, blieb das Gesamt-Trockensubstanzgewicht des ganzen Rübenorganismus fast das gleiche, wie bei Gruppe VII und bezifferte sich auf 78,1g, der Zuckergehalt der Trockensubstanz der Wurzeln einer Rübe hingegen sank auf 59,180/0.

Bei diesen Experimenten konnten wir die hochwichtige Beobachtung machen, daß schon ³/₁₀ Molekulargewicht von reinem Kaliumchlorid, das sind also 22,38 g (siehe Gruppe VI), auf den Organismus der Zuckerrübe giftig wirkten. Fügt man aber zu dieser

Menge $^{9}/_{10}$ Molekulargewicht von Natriumchlorid, das sind 11,7 g hinzu, so wird die Giftigkeit teilweise aufgehoben. In der Tat fanden wir bei Gruppe IX ein Gesamt-Trockensubstanzgewicht einer Rübe von 51,8 g, einen Zuckergehalt der Trockensubstanz der Wurzeln einer Rübe von 58,33 $^{0}/_{0}$.

Diese Daten liefern ein interessantes Bild von der Wirkung einzelner Chloride auf die Entwicklung des Zuckerrübenorganismus. Man sieht nämlich daraus, daß bei Anwendung von ¹/₁₀ Molekulargewicht von Natriumchlorid der Ertrag an Zuckerrüben wohl etwas steigt, eine größere Ertragserhöhung aber durch die Einwirkung von ¹/₁₀ Molekulargewicht des Kaliumchlorids hervorgerufen wird.

Benutzt man nun ²/₁₀ Molekulargewicht von Natriumchlorid, so übt dasselbe schon einen schädlichen Einfluß auf den Zuckerrübenorganismus und eine Depression auf das Wachstum desselben aus; das Kaliumchlorid wirkt auf das Gedeihen der Rübe schon nicht mehr fördernd. Größere Mengen von Kaliumchlorid wie ³/₁₀ Molekulargewicht beeinträchtigen schon bedeutend die Entwicklung der Zuckerrübe. Wir fanden in einem derartigen Falle (siehe Gruppe VI) ein Gesamt-Trockensubstanzgewicht von 34,8 g.

Mischt man aber Natriumchlorid mit Kaliumchlorid, so wird die Giftigkeit beider Salze aufgehoben, wie dies aus Gruppe VII, VIII und IX deutlich zu ersehen ist.

Unsere gewonnenen Resultate belehren uns, daß von dem Wurzelsystem der Zuckerrübe das Kaliumion dann in den größten Mengen resorbiert wird, wenn sich Kaliumchlorid neben Natriumchlorid im Nährboden vorfindet. Kaliumchlorid neben Natriumchlorid bewirkt auch die größte Produktion an organischer Materie und auch den größten Zuckergehalt der Rübe.

In Tabelle I sind die Resultate der Versuche genau dargestellt. Von großem Interesse ist die Produktion an Zucker stets per 5 Vegetationsgefäße in den einzelnen Gruppen.

In	der	· I.	Gruppe	wurden			47,66 g	Zucker	produziert
"	"	II.	77	"			$62,53\mathrm{g}$	"	n
27	"	III.	"				4000	77	"
"	"	IV.	"	"			50,33 g	27	"
79	"	V.	"						"
"	"	VI.	"				45,93 g		"
"	27	VII.	"				127,62 g	"	n
"	27	VIII.	27				125,12 g	27	**
"	"	IX.	"				73,48 g	"	"

Es zeigt sich hier deutlich, daß in der Gruppe VII, bei der je ¹/₁₀ Molekulargewicht Kalium- und Natrium-chlorid vorhanden war, die größte Produktion an Saccharose stattgefunden hat. Die Entgiftungserscheinung durch die antagonistische Ionenwirkung tritt deutlich zutage. Dasselbe gilt für Gruppe VIII, bei der je ²/₁₀ Molekulargewicht von Kalium- und Natriumchlorid angewendet worden war.

In diesem Nährmedium befanden sich physiologisch-äquilibrierte Salzlösungen, d. h. Lösungen, in denen die giftigen Wirkungen, die jedes Salz haben würde, wenn es allein in Lösung wäre, durch antagonistische Ionenwirkung aufgehoben werden.

Tabelle I.

					-				
Gruppe	Angewendete Menge der Chloride	Durchschnitti. Gew. og der frischen Blatte substanz pro Topf	Durchschnitti. Gew. og der Trockensubstanz der Biätter pro Topf	Durchschnitti. Gew. og der frischen Wurzeln pro Topf	Durchschnitti. Gew. og der Trockensubstanz der Wurzeln pro Topf	Durchschnittlicher Zuckergehalt der frischen Rübe	Durchschn. Zucker- gehalt der Trocken- substanz der Rübe	Durchschnittl. Gew. eines Exemplars	Trockensubstans der Blätter und Wurzeln
I	_	98,50	23,40	99,30	22,74	9,60	41,92	197,80	46,14
ΙĪ	1/10 Mg. NaCl	122,30	27,20	115,80	25,86	10,80	48,36	238,10	53,06
II III IV	¹ / ₁₀ Mg. KCl	158,60	34,30	152,70	34,70	13,50	59,40	311,80	69,00
IV	² / ₁₀ Mg. NaCl	108,40	24,30	98,70	23,80	10,20	42,30	207,10	48,10
V	² / ₁₀ Mg. KCl	156,00	35,20	140,80	30,90	12,30	56,06	296,80	66,10
VI	⁸ / ₁₀ Mg. KCl	82,80	18,20	75,30	16,60	12,20	55,35	158,10	34,80
VII	1/10 Mg. NaCl	172,70	40,80	178,50	40,20	14,30	63,49	351,20	81,00
VIII	+ 1/ ₁₀ Mg. KCl 2/ ₁₀ Mg. NaCl	160,20	35,80	184,00	42,30	13,60	59,1 8	3 44 ,20	78,10
IX	*/ ₁₀ Mg. KCl */ ₁₀ Mg. KCl + */ ₁₀ Mg. NaCl	120,40	26,60	110,50	25,20	1 3, 30	5 8,33	280,90	51,80

In Gruppe III, wo nur ¹/₁₀ Molekulargewicht von Kaliumchlorid vorhanden war, stieg das Gesamtgewicht der Trockensubstanz der Rübe, ebenso in Gruppe V, wo ²/₁₀ Molekulargewicht Kaliumchlorid anwesend waren. In Gruppe VI mit ⁸/₁₀ Molekulargewicht Kaliumchlorid ist eine Giftwirkungserscheinung wahrzunehmen gewesen.

In Gruppe IX wurde eine so große Menge von Kalium- und Natriumchlorid angewendet, daß eine Hemmung in der Produktion der Pflanzensubstanz eintrat. Interessant ist auch die Wirkung des Natriumchlorids. Große Mengen davon haben auf die Pflanzenproduktion nicht günstig gewirkt.

2. Versuchsreihe.

Es ist allgemein bekannt, daß Kalksalze im Boden die Kaliumaufnahme der Zuckerrübenpflanze ungemein begünstigen, ferner den Ertrag erhöhen und die Qualität verbessern. Um uns auch darüber endgültig zu überzeugen, haben wir neuerdings Versuche in Vegetationsgefäßen angestellt. Zu dem Versuchsboden, der wie früher aus Sand und Torf bestand, wurden zu jedem Vegetationsgefäß 30 g, das sind $^3/_{10}$ Molekulargewicht, von reinem Calciumcarbonat hinzugesetzt. Bei der Durchführung dieser Versuche wurde genau so vorgegangen wie bei der 1. Versuchsreihe. Wir führen hier nun die einzelnen Gruppen der Vegetationsgefäße, welch letztere entweder Kaliumchlorid oder Natriumchlorid oder beide Salze zusammen enthielten, an. Das Arrangement der Versuche erfolgte in nachstehender Weise:

Jede Gruppe bestand aus 5 Vegetationsgefäßen.

Jedes Vegetationsgefäß erhielt vor der Einsaat 1 l reinen destillierten Wassers.

Die I. Gruppe verblieb ohne Kalium- und Natriumchloridzusatz.

II. Gruppe: Jedes Vegetationsgefäß empfing 5,85 g Natriumchlorid ($^1/_{10}$ Molekulargewicht), gelöst in 1 l reinem destillierten Wasser.

III. Gruppe: Jeder dieser Töpfe erhielt 7,46 g Kalium-

chlorid ($^{1}/_{10}$ Molekulargewicht), gelöst in 1 l reinem destillierten Wasser.

- IV. Gruppe: Jedes dieser Gefäße empfing 7,46 g Kalium-chlorid ($^{1}/_{10}$ Molekulargewicht) und 5,85 g Natriumchlorid ($^{1}/_{10}$ Molekulargewicht), gelöst in 1 l reinem destillierten Wasser.
- V. Gruppe: Jeder der Töpfe bekam 14,92 g Kaliumchlorid (²/₁₀ Molekulargewicht) und 11,7 g Natriumchlorid (²/₁₀ Molekulargewicht), gelöst in 1 l reinem destillierten Wasser.
- VI. Gruppe: Jedes Vegetationsgefäß erhielt 22,38 g Kaliumchlorid ($^3/_{10}$ Molekulargewicht), gelöst in 1 l reinem destillierten Wasser.

Die Aussaat erfolgte auch hier am 10. April, die Ernte zwischen 2. und 5. September. Als Versuchspflanze wurde abermals Wohankas "Ertragsreiche" Zuckerrübe gewählt. Die Resultate der Versuche sind in nachfolgender Zusammenstellung vorhanden.

Gruppe I.

Anzahl der Rüben von 5 Vegetationsgefäßen	5	Stück
Durchschnittliches Gewicht der frischen Wurzeln		
einer Zuckerrübe	114,8	g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz		
der Wurzeln einer Rübe	26,6	g
Durchschnittlicher Zuckergehalt der frischen Rübe	10,5	°/0
Durchschnittlicher Zuckergehalt der Trockensub-		. •
stanz der Rübe	45,31	•/ ₀
Durchschnittliches Gewicht der frischen Blatt-		
substanz einer Rübe	114,70	g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz		
der Blätter einer Rübe	23,2	g
Gruppe II.		
Anzahl der Rüben von 5 Vegetationsgefäßen	5	Stück
Durchschnittliches Gewicht der frischen Wurzeln		
einer Zuckerrübe	138,2	g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz		
der Wurzeln einer Rübe	29,8	g
Durchschnittlicher Zuckergehalt der frischen Rübe	11,3	0/0
Durchschnittlicher Zuckergehalt der Trockensub-	-	. •
stanz der Rübe	52,41	°/0

Abhāngigkeit d. Resorption des K v. d. Gegenw. d. Na im Org	zanismus	. 283
Durchschnittliches Gewicht der frischen Blatt-	108 50	~
substanz einer Rübe	100,50	g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz der Blätter einer Rübe	25,3	g
Gruppe III.		
Anzahl der Rüben von 5 Vegetationsgefäßen	5	Stück
Durchschnittliches Gewicht der frischen Wurzeln		
einer Zuckerrübe	178,3	g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz		
der Wurzeln einer Rübe	37,9	g
Durchschnittlicher Zuckergehalt der frischen Rübe	14,8	0/0
Durchschnittlicher Zuckergehalt der Trockensub-		
stanz der Rübe	69,64	•/0
Durchschnittliches Gewicht der frischen Blatt-		. •
substanz einer Rübe	132,2	g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz		
der Blätter einer Rübe	30,10	g
Gruppe IV.		
Anzahl der Rüben von 5 Vegetationsgefäßen	5	Stück
Durchschnittliches Gewicht der frischen Wurzeln		
einer Zuckerrübe	217,7	g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz		
der Wurzeln einer Rübe	49,83	g
Durchschnittlicher Zuckergehalt der frischen Rübe		%
Durchschnittlicher Zuckergehalt der Trockensub-		
stanz der Rübe	67,74	°/0
Durchschnittliches Gewicht der frischen Blatt-		
substanz einer Rübe	174,30	g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz		
der Blätter einer Rübe	40,0	g
Gruppe V.		
Anzahl der Rüben von 5 Vegetationsgefäßen	5	Stück
Durchschnittliches Gewicht der frischen Wurzeln	-	
einer Zuckerrübe	212.6	g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz		3
der Wurzeln einer Rübe	48,9	g
Durchschnittlicher Zuckergehalt der frischen Rübe		
_	=	

Durchschnittlicher Zuckergehalt der Trockensub-		
stanz einer Rübe	65,65	°/0
Durchschnittliches Gewicht der frischen Blatt-		
substanz einer Rübe	170,30	g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz		
der Blätter einer Rübe	37,70	g
Gruppe VI.		
Anzahl der Rüben von 5 Vegetationsgefäßen	5	Stück
Durchschnittliches Gewicht der frischen Wurzeln		
einer Zuckerrübe	90,5	g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz		
der Wurzeln einer Rübe	21,1	g
Durchschnittlicher Zuckergehalt der frischen Rübe	13,5	°/ ₀
Durchschnittlicher Zuckergehalt der Trockensub-		
stanz der Rübe	57,90	°/0
Durchschnittliches Gewicht der frischen Blatt-		
substanz einer Rübe	78,3	g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz		
der Blätter einer Rübe	18,5	g

Beobachten wir jetzt einmal die Resultate der I. Gruppe der 2. Versuchsreihe, so finden wir, daß bei jenen Vegetationen, die sich in einem Boden entwickelten, wo neben Sand und Torf auch noch 30 g Kalk vorhanden waren, das Gesamttrockensubstanzgewicht einer ganzen Rübe, also sowohl des ober- als auch unterirdischen Teiles, 49,8 g, der Zuckergehalt der Trockensubstanz der Wurzeln einer Rübe 45,31% betrug. Bei der 1. Versuchsreihe, wo die Zuckerrübe in einem Boden gezüchtet wurde, der bloß aus Sand und Torf bestand, bezifferte sich bei der I. Gruppe das Gesamttrockensubstanzgewicht einer Rübe auf 46,14 g, der Zuckergehalt der Trockensubstanz der Wurzeln einer Rübe auf 41,920/o. Das Gesamtgewicht der Trockensubstanz einer Rübe bei der 2. Versuchsreihe ist also fast um 4 g, der Zuckergehalt um 3,390/0 gegenüber der 1. Versuchsreihe gestiegen.

Auch bei Gruppe II, woselbst 5,85 g Natriumchlorid (1/10 Molekulargewicht) angewendet wurden, war der

Effekt in der Entwicklung des ganzen Zuckerrübenorganismus bei jenen Vegetationsgefäßen, wo Kalk zugegen war, etwas größer als bei der 1. Versuchsreihe.

Wir fanden bei Anwendung von Kalk pro Rübe ein Gesamttrockensubstanzgewicht von 55,1 g, einen Zuckergehalt der Trockensubstanz der Wurzeln einer Rübe von $52,41^{\circ}/_{0}$. Das Gesamtgewicht der Trockensubstanz einer Rübe bei derselben Gruppe der 1. Versuchsreihe belief sich auf 53,06 g, der Zuckergehalt auf $48,36^{\circ}/_{0}$; es ergibt sich demnach pro Rübe eine Differenzim Gesamttrockensubstanzgewicht von 2,04 g, im Zuckergehalt von $4,05^{\circ}/_{0}$.

Frappant sind die Ergebnisse bei Gruppe III, woselbst 7,46 g Kaliumchlorid ($^1/_{10}$ Molekulargewicht) benutzt wurden. Hier erntete man pro Rübe ein Gesamttrockensubstanzgewicht von 68 g, einen Zuckergehalt der Trockensubstanz der Wurzeln einer Rübe von $69,64^{\circ}/_{0}$. Bei der 1. Versuchsreihe bezifferte sich das Gesamttrockensubstanzgewicht einer Rübe auf 69 g, der Zuckergehalt auf $59,4^{\circ}/_{0}$. Wie aus diesen Daten erhellt, ist hier das Gewicht der Gesamttrockensubstanz nicht merklich gestiegen, der Zuckergehalt der Trockensubstanz der Wurzeln einer Rübe aber um $10,24^{\circ}/_{0}$ (!).

Ein äußerst günstiger Einfluß auf die Produktion der Gesamttrockensubstanz, sowie Erhöhung des Zuckergehaltes, wurde bei Gruppe IV bei Anwendung von 7,46 g Kaliumchlorid ($^1/_{10}$ Molekulargewicht) und 5,85 g Natriumchlorid ($^1/_{10}$ Molekulargewicht) ausgeübt. Daselbst betrug das Gesamttrockensubstanzgewicht eines ganzen Rübenkörpers 89,83 g, der Zuckergehalt der Trockensubstanz der Wurzeln einer Rübe 67,74 $^0/_{0}$.

Bei der 1. Versuchsreihe (siehe Gruppe VII) belief sich das Gesamttrockensubstanzgewicht einer Rübe auf 81 g, der Zuckergehalt der Trockensubstanz der Wurzeln einer Rübe auf 63,49%. Das Gesamttrockensubstanzgewicht einer Rübe war also bei Kalkbenutzung um 8,83 g, der Zuckergehalt um 4,25% größer als bei der 1. Versuchsreihe.

Nicht minder günstige Resultate gewannen wir bei Gruppe V, bei der 14,92 g Kaliumchlorid (2/10 Molekulargewicht) und 11,7 g Natriumchlorid (2/10 Molekulargewicht) angewendet wurden. Hier bezifferte sich das Gesamtgewicht der Trockensubstanz einer ganzen Rübe auf 86,6 g, der Zuckergehalt der Trockensubstanz der Wurzeln einer Rübe auf 65,65%. Bei der 1. Versuchsreihe (siehe Gruppe VIII) belief sich das Gesamttrockensubstanzgewicht einer Rübe auf 78,1 g, der Zuckergehalt auf 59,180/o. Die Differenz im Gesamttrockensubstanzgewicht beträgt also 8,5 g. Auffallend ist allerdings hier die Wirkung, die der Kalk auf die Erhöhung des Zuckergehaltes ausgeübt hat. Letzterer ist nämlich um 6,47% höher als bei der 1. Versuchsreihe. Hierdurch wird der eklatanteste Beweis geliefert, daß dort, wo die Konzentration der Salze so groß ist, daß durch sie eine Depression auf die Zuckerbildung in der Rübe hervorgerufen wird, durch Kalk dieser schädliche Einfluß gehemmt wird.

Treten wir nun zur letzten Versuchsgruppe, woselbst 22,38 g Kaliumchlorid (3/10 Molekulargewicht) benutzt wurden, so erblicken wir, daß schon diese 3/10 Molekulargewicht von Kaliumchlorid giftige Wirkungen auf den Rübenorganismus zur Folge haben, die sich in einer geringeren Bildung von Rübentrockensubstanz manifestieren. Auch hier konnten wir wiederum wahrnehmen, daß Kalk die giftige Wirkung des Kaliumchlorids mildert, wie dies aus nachstehenden Daten klar ersichtlich ist.

Bei Gruppe VI der 2. Versuchsreihe wurde ein Gesamttrockensubstanzgewicht einer ganzen Rübe von 39,6 g, ein Zuckergehalt der Trockensubstanz der Wurzeln einer Rübe von $57,9^{\circ}/_{0}$ gefunden. Das Gesamttrockensubstanzgewicht einer Rübe bei der 1. Versuchsreihe (siehe Gruppe VI) belief sich auf 34,8 g, der Zuckergehalt der Trockensubstanz der Wurzeln einer Rübe auf $55,35^{\circ}/_{0}$. Somit ergibt sich hier ein Ertragsplus an Trockensubstanz von 4,8 g, an Zucker von $2,55^{\circ}/_{0}$.

Wenn wir all die Ergebnisse der 2. Versuchsreihe

näher in Augenschein nehmen, so finden wir, daß bei jenen Vegetationsgefäßen, wo */10 Molekulargewicht von Kalk und nebenbei Kaliumchlorid verwendet wurden, durch letzteres eine sehr günstige Wirkung auf die Produktion der Pflanzenmaterie, speziell auf die Bildung des Zuckers hervorgerufen wurde. Ein noch rascheres Ansteigen des Wachstums, sowie der Zuckerbildung wird durch die Gegenwart von Natriumchlorid bewirkt. Der schädliche Einfluß, der durch größere Mengen von Kalium- eventuell Natriumchlorid auf die Pflanzenproduktion verursacht wird, wird durch Kalk ungemein vermindert.

Merkwürdig ist, daß bei allen Gruppen der 2. Versuchsreihe von dem Gesamttrockensubstanzgewicht der ganzen Pflanze stets das Trockensubstanzgewicht der Wurzeln prävaliert. Der oberirdische Teil, also die Blätter, sind bei dieser Versuchsreihe im Vergleiche zu jenen Vegetationen, wo nur Kalium- und Natrium-chlorid angewendet wurde, in ihrer Entwicklung zurückgeblieben. Hieraus läßt sich demnach schließen, daß Kalk die Wurzelbildung ungemein begünstigt.

Aus diesen Untersuchungen geht ferner hervor, daß bei Gegenwart von entsprechenden Mengen von Kalium- und Natriumchlorid das Calciumcarbonat die Pflanzenproduktion und Zuckerbildung günstig beeinflußt. Bei Anwendung von abnormalen Quantitäten von Kalium- und Natriumchlorid, die an und für sich eine Depression auf das Gedeihen der Rübe zur Folge haben, übt das Calciumcarbonat schon eine Schutzwirkung aus.

Die Resultate unserer Versuche sind in Tabelle II übersichtlich zusammengestellt. Die Produktion an Zucker in den einzelnen Gruppen, immer per 5 Vegetationsgefäße, erfolgte in nachstehender Weise:

In	Gruppe	I w	urden	60,27 g	Zucker	produziert
"	n	II	"	78,08 g	"	'n
"	"	Ш	"	131,94 g	n	n
"	n	IV	11	168,71 g	n	**
"	"	V	"	160,51 g	27	"
99	77	VI	"	61.08 g	"	"

Tabelle II.

Gruppe	Angewendete Menge der Chloride	Durchschnittliches Gewicht der frischen Blattsubstanz pro Topf	Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz der Blätter pro Topf	Durchschnittliches Gewicht der frischen Wurzeln pro Topf	Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz der Wurzeln pro Topf	Durchschnittlicher Zuckergehalt der frischen Rübe	Durchschnittlicher Zuckergehalt der Trockensubstanz der Rübe	Durchschnittliches Gewicht eines frischen Exemplars	Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz eines Exemplars
		g	g	g	g	0/0	0/0		· ·
			0	В	Б	/0	10	g	g
I	_	114,70	23,20	114,80	26,60		45,31	229,50	
I II			23,20 25,30			10,50 11,30			49,80 55,10
II II	1/ ₁₀ Mg. NaCl	114,70	23,20	114,80	26,60	10,50 11,30	45,31 52,41	229,50	49,80 55,10
I II III IV	$^{1}/_{10}$ Mg. KCl	114,70 106,50 132,20 174,30	23,20 25,30 30,10 40,00	114,80 138,20 178,30 217,70	26,60 29,80	10,50	45,31 52,41 69,64 67,74	229,50 244,70	49,80
I II IV V VI	¹ / ₁₀ Mg. KCl	114,70 106,50 132,20	23,20 25,30 30,10	114,80 138,20 178,30	26,60 29,80 37,90	10,50 11,30 14,80	45,31 52,41 69,64	229,50 244,70 310,50	49,80 55,10 68,00

Es war wieder dort der größte Zuckerertrag zu verzeichnen, wo beide Chloride zusammen anwesend waren, das ist Gruppe IV mit je ½ Molekulargewicht Kalium- und Natriumchlorid, und bei Gruppe V mit je ½ Molekulargewicht Kalium- und Natriumchlorid. Ihnen zunächst folgt dann Gruppe III, bei der nur Kaliumchlorid vorhanden war, und man kann auch aus diesem Versuche wieder die Bedeutung des Kaliumchlorids auf die Produktion des Zuckers in der Zuckerrübe erkennen.

Wichtig ist auch die Tatsache, daß Natriumchlorid bei Gegenwart von Calciumcarbonat nicht so giftig wirkt wie in der 1. Versuchsreihe, ohne Anwesenheit von Calciumcarbonat. Die Zuckerproduktion wurde durch die Gegenwart von Kalk sehr begünstigt und erhöht. Wir sehen, daß in der 1. Versuchsreihe, wo $^{1}/_{10}$ MolekulargewichtKaliumchloridangewendet wurde, 103 g Zucker produziert wurden, während bei Anwesenheit von Kalk die gleiche Menge Kaliumchlorid eine Zuckerproduktion von 132 g bewirkte.

Bei Vorhandensein von je ¹/₁₀ Molekulargewicht beider Chloride wurden in der 1. Versuchsreihe 127,6 g Zucker produziert. Bei Gegenwart von Kalk bewirkte dieselbe Menge der Chloride eine Zuckerproduktion von 168,7 g. Dies sind sicherlich sehr frappante Unterschiede, die in der Tat auch in der Praxis zur Geltung kommen.

3. Versuchsreihe.

Es ist nur jetzt die Frage, wie sich das Calciumchlorid neben Kalium- und Natriumchlorid verhält.

Um uns auch diesbezüglich klar zu werden, haben wir noch eine 3. Versuchsreihe angestellt, bei deren Ausführung genau so vorgegangen wurde, wie bei den früheren zwei Versuchsreihen, nur mit dem Unterschiede, daß wir anstatt Calciumcarbonat Calciumchlorid anwendeten.

Jede Gruppe bestand aus 4 Vegetationsgefäßen.

I. Gruppe: Jedes Vegetationsgefäß erhielt 11,1 g reines Calciumchlorid ($^1/_{10}$ Molekulargewicht), gelöst in 1 l reinem destillierten Wasser.

II. Gruppe: Jeder der Töpfe erhielt 11,1 g reines Calciumchlorid ($^1/_{10}$ Molekulargewicht) und 5,85 g Natriumchlorid ($^1/_{10}$ Molekulargewicht), gelöst in 1 l reinem destillierten Wasser.

III. Gruppe: Jedes Vegetationsgefäß empfing 11,1 g reines Calciumchlorid ($^{1}/_{10}$ Molekulargewicht) und 7,46 g Kaliumchlorid ($^{1}/_{10}$ Molekulargewicht), gelöst in 1 l reinem destillierten Wasser.

IV. Gruppe: Jedes Vegetationsgefäß empfing 11,1 g reines Calciumchlorid ($^1/_{10}$ Molekulargewicht) und 7,46 g Kaliumchlorid ($^1/_{10}$ Molekulargewicht) und 5,85 g Natriumchlorid ($^1/_{10}$ Molekulargewicht), gelöst in 1 l reinem destillierten Wasser.

Die Resultate dieser Versuche finden sich in nachfolgender Übersicht vor.

Gruppe I.

• •
Anzahl der Rüben von 4 Vegetationsgefäßen 4 Stück
Durchschnittliches Gewicht der frischen Wurzeln
einer Zuckerrübe 104,8 g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz
der Wurzeln einer Rübe 23,96 g
Durchschnittlicher Zuckergehalt der frischen Rübe 10,0 °/0
Durchschnittlicher Zuckergehalt der Trockensub-
stanz der Rübe 43,74 $^{0}/_{0}$
Durchschnittliches Gewicht der frischen Blattsub-
stanz einer Rübe 80,42 g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz
der Blätter einer Rübe 19,34 g
Gruppe II.
Anzahl der Rüben von 4 Vegetationsgefäßen 4 Stück

19

Biochemische Zeitschrift Band 78.

J. Stoklasa:

Durchschnittliches Gewicht der frischen Wurzeln
einer Zuckerrübe 108,3 g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz
der Wurzeln einer Rübe 24,26 g
Durchschnittlicher Zuckergehalt der frischen Rübe 10,30 %
Durchschnittlicher Zuckergehalt der Trockensub-
stanz der Rübe 45,90 $^{\rm o}/_{\rm o}$
Durchschnittliches Gewicht der frischen Blattsub-
stanz einer Rübe 86,81 g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz
der Blätter einer Rübe 16,37 g
Gruppe III.
Anzahl der Rüben von 4 Vegetationsgefäßen 4 Stück
Durchschnittliches Gewicht der frischen Wurzeln
einer Zuckerrübe
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz
der Wurzeln einer Rübe 34,4 g
Durchschnittlicher Zuckergehalt der frischen Rübe 14,3 ⁰ / ₀
Durchschnittlicher Zuckergehalt der Trockensub-
stanz der Rübe
Durchschnittliches Gewicht der frischen Blattsub-
stanz einer Rübe
der Blätter einer Rübe 32,1 g
der blatter einer Kube
Gruppe IV.
Anzahl der Rüben von 4 Vegetationsgefäßen 4 Stück
Durchschnittliches Gewicht der frischen Wurzeln
einer Zuckerrübe 152,8 g
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz
der Wurzeln einer Rübe 31,3 g
Durchschnittlicher Zuckergehalt der frischen Rübe 15,2 %
Durchschnittlicher Zuckergehalt der Trockensub-
stanz der Rübe
Durchschnittliches Gewicht der frischen Blattsub-
stanz einer Rübe
Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz
der Blätter einer Rübe
In der Tabelle III sind die Resultate unserer diesbezüg-
lichen Beobachtungen verzeichnet. Man sieht auf den ersten

Tabelle III.

Gruppe	Angewendete Menge der Chloride	Durchschnittliches Gewicht der frischen Blattsubstanz pro Topf	Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz der Blätter pro Topf	Durchschnittliches og Gewicht der frischen Wurzeln pro Topf	Durchschnittliches Gewicht der Grockensubstanz der Wurzein pro Topf	Durchschnittlicher Zuckergehalt der frischen Rübe	Durchschnittlicher Zuckergehalt der Trockensubstanz der Rübe	Durchschnittliches or Gewicht eines frischen Exemplars	Durchschnittliches Gewicht der Trockensubstanz eines Exemplars
I	$^{1}/_{10}$ Mg. 1 CaCl $_{2}$	80,42 86,81		104,80 108,30	23,96 24,26	10,00 10,30	43,74 45,90	185,22 195,11	
III	$^{1}/_{10}$ " CaCl ₂ + $^{1}/_{10}$ " KCl	144,20	32,10	158,80	34,40	14,30	66,02	303,00	
14	$^{1}/_{10}$ " $^{\text{CaCl}_{2}}+^{1}/_{10}$ " NaCl $^{+}$ $^{1}/_{10}$ Mg. KCl	182,70	26,80	152,80	31,30	15,20	74,21	335,50	

Blick, daß durch Zusatz von $^{1}/_{10}$ Mg. Chlorcalcium ein Rückgang in der Pflanzenproduktion gegenüber den anderen Versuchen ohne Chlorcalcium eintritt. Durch Zusatz von Natriumchlorid wurde die Giftwirkung des Chlorcalciums nicht aufgehoben. Erst ein Zusatz von $^{1}/_{10}$ Mg. Kaliumchlorid bewirkte dies. In der Gruppe I, die ohne Chloride gelassen war, beträgt das durchschnittliche Gewicht der Trockensubstanz eines Exemplars 46 g (siehe Tabelle I). Ein Zusatz von $^{1}/_{10}$ Mg. Calciumchlorid setzt das Gewicht auf 43,30 g herab. Fügt man nun $^{1}/_{10}$ Mg. Natriumchlorid hinzu, erhält man als durchschnittliches Gewicht 40,63 g, und erst bei Zusatz von $^{1}/_{10}$ Mg. Kaliumchlorid steigt das Gewicht auf 66,50 g (Tabelle II).

Sehr deutlich wird die Wirkung des Calciumchlorids im Organismus der Zuckerrübe auch durch die Zuckerproduktion illustriert. Diese beträgt in Gruppe I (mit $^{1}/_{10}$ Mg. Calciumchlorid) pro vier Exemplare 41,92 g; in Gruppe II (mit $^{1}/_{10}$ Mg. Calciumchlorid + $^{1}/_{10}$ Mg. Natriumchlorid) 44,54 g, in Gruppe III (mit $^{1}/_{10}$ Mg. Calciumchlorid) 90,84 g, in Gruppe IV mit $^{1}/_{10}$ Mg. Kaliumchlorid + $^{1}/_{10}$ Mg. Natriumchlorid + $^{1}/_{10}$ Mg. Calciumchlorid + $^{1}/_{10}$ Mg. Natriumchlorid + $^{1}/_{10}$ Mg. Kaliumchlorid, also bei Gegenwart aller drei Chloride, steigt sie auf 92,91 g, was als Maximalproduktion dieser Versuchsreihe erscheint.

Aus dieser Versuchsreihe ersieht man auch deut-

lich die günstige Wirkung des Kaliums bei Gegenwart von Natrium und Calcium.

4. Versuchsreihe.

Im Jahre 1909 haben wir jene Versuche mit Zuckerrübe, und zwar mit der Varietät "Wohankas Zuckerreiche", deren Anordnung in der ersten Versuchsreihe genau geschildert wurde, wiederholt.

Hierzu verwendeten wir 72 Vegetationsgefäße von 35 cm Höhe und 27 cm Durchmesser. In jedes Vegetationsgefäß kamen 18 kg Erde und ein Exemplar Zuckerrübe, das dort zur Entwicklung gelangte. Der Boden war für diesen Versuch eigens vorgerichtet. Er bestand aus einem Gemisch von 10 q fein durchgesiebten Sand und 6 q Torf aus Zálš. Das sind 62°/0 Sand und 38°/0 Torf. Die ganze Anordnung der Versuche war dieselbe wie in den vorerwähnten Fällen. 72 Vegetationsgefäße wurden in 9 Gruppen zu je 8 Vegetationsgefäßen eingeteilt, und für jede Gruppe wurde eine spezielle Kalium- oder Natrium-Chloridlösung zubereitet. Zu jedem Vegetationsgefäß wurde entweder 1 l Kaliumchlorid- oder Natriumchloridlösung, oder eventuell beide Lösungen zusammen zugesetzt. Die Versuche wurden bei dem gleichen Wassergehalt des Bodens ausgeführt.

In 1 l destillierten Wassers war für jedes Vegetationsgefäß die Lösung folgendermaßen angeordnet:

Gruppe I (Vegetationsgefäß 1 bis 8): Keine Chloride.

Gruppe II (Vegetationsgefäß 9 bis 16): 5,85 g Natrium-chlorid = $\frac{1}{10}$ Molekulargewicht NaCl.

Gruppe III (Vegetationsgefäß 17 bis 24): 7,46 g Kalium-chlorid = $\frac{1}{10}$ Molekulargewicht KCl.

Gruppe IV (Vegetationsgefäß 25 bis 32); 11,70 g Natrium-chlorid = $\frac{3}{10}$ Molekulargewicht NaCl.

Gruppe V (Vegetationsgefäß 33 bis 40): 14,92 g Kalium-chlorid = $\frac{2}{10}$ Molekulargewicht KCl.

Gruppe VI (Vegetationsgefäß 41 bis 48): 22,38 g Kalium-chlorid $= \frac{3}{10}$ Molekulargewicht KCl.

Gruppe VII (Vegetationsgefäß 49 bis 56): 7,46 g Kaliumchlorid und 5,85 g Natriumchlorid.

Gruppe VIII (Vegetationsgefäß 57 bis 64): 14,92 g Kaliumchlorid und 11,70 g Natriumchlorid.

Gruppe IX (Vegetationsgefäß 65 bis 72): 22,38 g Kaliumchlorid und 11,70 g Natriumchlorid. Die Rüben waren am 1. Mai angebaut worden. Nach ihrer Entwicklung wurden die mechanischen Arbeiten, nämlich Vereinzeln und Hackarbeiten. durchgeführt. Die Ernte erfolgte am 19. Oktober. Die Vegetationszeit hatte also 51/2 Monate gedauert.

Die Rüben wurden nunmehr vorsichtig aus dem Boden her-

vom

Erdreich befreit und das Gewicht der Blattsubstanz und der Wurzeln bestimmt. Die

ausgenommen.

Resultate sind in der Tabelle IV verzeichnet. Was die Beschaffenheit der Blattsubstanz und der

Wurzeln der einzelnen Zuckerrübenexemplare aus den verschiedenen Gruppen anbe-

langt, so ist zu bemerken, daß die Blattsubstanz in Trockensubstanz der Blätter und Wurzeln

Durchschnittliches Gewicht

Durchschnittliches Gewicht

Durchschnittliches Gewicht

Durchschnittliches Gewicht von 1 Exemplar

In der Trockensubstanz 1 Rübe ist Zucker enthalten

Zucker in den Wurzeln 1 Rübe

Zucker in den Wurzeln 1 Rübe

Gewicht der Wurzeln von 1 Rübe

Gewicht der Wurzeln von 8 Exemplaren

Gewicht der Wurzeln von 8 Exemplaren

Trockensubstanz der Blätter von 1 Rübe

Gewicht der Wurzeln von 8 Exemplaren

Trockensubstanz der Blätter von 1 Rübe

Trockensubstanz of der Blätter of Sewicht der Blattsubstanz von 1 Exemplar of Sewicht der Sewicht der

 der ersten Gruppe einen deutlichen Kaliummangel verriet. Es waren zwischen den Blattrippen der älteren Blätter und an deren Stielen gelbe Flecke bemerkbar, die bald ins Braune übergingen.

Auch die Wurzeln der Rüben waren nicht normal entwickelt. In der zweiten und vierten Gruppe, bei denen nur Chlornatrium angewendet worden war, machten sich die Kaliummangelerscheinungen in auffallender Weise bemerkbar. Die älteren Blätter krümmten sich, die konvexe Seite nach oben gerichtet, die braunen Blattränder zeigten vielfach Einrisse.

In allen Gruppen, in denen nur Kaliumchlorid angewendet worden war, erschienen die Blätter schön sattgrün und gut entwickelt. Die beste Entwicklung der Blattsubstanz als auch der Rübenwurzeln konnten wir dort beobachten, wo beide Chloride vorhanden waren. Die Blätter waren dann sattgrün, saftig und von lebhaftem Glanze. Das Gewicht der Blätter als Trockensubstanz betrug bei den Zuckerrüben:

in Gruppe I, wo keine Chloride von Kalium und Na-

trium angewendet worden waren, pro Topf . . 28,64 g, in Gruppe II mit $^1/_{10}$ Molekulargewicht Natriumchlorid 20,92 g, in Gruppe III mit $^1/_{10}$ Molekulargewicht Kaliumchlorid 30,40 g, in Gruppe IV mit $^2/_{10}$ Molekulargewicht Natriumchlorid 28,20 g, in Gruppe V mit $^2/_{10}$ Molekulargewicht Kaliumchlorid 27,89 g, in Gruppe VI mit $^8/_{10}$ Molekulargewicht Kaliumchlorid 26,92 g, in Gruppe VII mit je $^1/_{10}$ Molekulargewicht Kaliumchlorid 21,67 g, and Natriumchlorid 21,67 g

chlorid und Natriumchlorid 41,67 g, in Gruppe VIII mit je $^2/_{10}$ Molekulargewicht Kalium-

chlorid und Natriumchlorid 28,56 g, in Gruppe IX mit $^8/_{10}$ Molekulargewicht Kaliumchlorid

und ³/₁₀ Molekulargewicht Natriumchlorid . . 27,45 g.

Wir sehen also, daß die größte Menge von Blattsubstanz in Gruppe VII produziert wurde, wo je $^1/_{10}$ Molekulargewicht Natrium- und Kaliumchlorid angewendet wurden. Darauf folgt Gruppe III mit nur $^1/_{10}$ Molekulargewicht Kaliumchlorid im Nährmedium.

Das Gewicht der Zuckerrübenwurzeln als Trockensubstanz betrug:

in Gruppe I, wo keine Chloride angewendet worden	
waren, pro Topf	47,59 g,
in Gruppe II mit ¹ / ₁₀ Molekulargewicht Natriumchlorid	62,21 g,
in Gruppe III mit ¹ / ₁₀ Molekulargewicht Kaliumchlorid	76,89 g,
in Gruppe IV mit ⁹ / ₁₀ Molekulargewicht Natriumchlorid	63,73 g,
in Gruppe V mit $\sqrt[9]{_{10}}$ Molekulargewicht Kaliumchlorid	80,71 g,
in Gruppe VI mit ⁸ / ₁₀ Molekulargewicht Kaliumchlorid	76,81 g,
in Gruppe VII mit je 1/10 Molekulargewicht Kalium-	
chlorid und Natriumchlorid	81,38 g,
in Gruppe VIII mit je 2/10 Molekulargewicht Kalium-	
chlorid und Natriumchlorid	81,19 g,
in Gruppe IX mit ⁸ / ₁₀ Molekulargewicht Kaliumchlorid	
und ² / ₁₀ Molekulargewicht Natriumchlorid	54,74 g.
Wir finden auch hier, daß die größte Me	
Wurzeln in Gruppe VII geerntet wurde, wo je	_
lekulargewicht von Natriumchlorid und Kalium	. 10
vorhanden waren.	
TO 0 0 1 1 0 TITT 14 1 9/ 10/1	

Darauf folgt Gruppe VIII mit je $^2/_{10}$ Molekulargewicht Kalium- und Natriumchlorid. Diesen beiden Gruppen schließt sich Gruppe V an, wo $^2/_{10}$ Molekulargewicht Kaliumchlorid angewendet worden waren.

Wenn wir die Pflanzenproduktion in den einzelnen Gruppen näher betrachten, so finden wir in der Tat dort, wo nur reines Kaliumchlorid oder nur reines Natriumchlorid angewendet wurde, einen Minderertrag. Bei den Gruppen, in denen beide Chloride zusammen waren, wie zum Beispiel im vorliegenden Falle in Gruppe VII und VIII, finden wir die größte Pflanzenproduktion. In Gruppe VII beträgt die Pflanzenproduktion für 1 Exemplar durchschnittlich 123 g. In Gruppe VIII 110 g.

Bei Anwendung von ³/₁₀ Molekulargewicht Kaliumchlorid und ²/₁₀ Molekulargewicht Natriumchlorid wurde eine Depression auf die Pflanzenproduktion hervorgerufen. Denn hier beträgt das Gewicht pro 1 Exemplar als Trockensubstanz bloß 82 g.

Von großem Interesse ist die Zuckerproduktion in den einzelnen Gruppen auf 10 Exemplare umgerechnet.

Sie betrug:

in	Gruppe	I.			343,5	g,
"	"	II			480,8	g,
"	"	Ш			566,1	g,
"	"	IV			448,3	g,
"	"	V			576,2	g,
"	"	VI			543,5	g,
"	"	VII			567,6	g,
"	"	VII	I		579,7	g,
"	"	\mathbf{IX}			404,6	g.

Die größte Zuckerproduktion wurde in Gruppe VIII beobachtet, also dort, wo je $^{2}/_{10}$ Molekulargewicht Kalium- und Natriumchlorid vorhanden waren.

Wo nur Natriumchlorid angewendet wurde, hat gegenüber den übrigen Gruppen, eine starke Depression der Zuckerproduktion Platz gegriffen. Der Unterschied beträgt gegen 100 g Saccharose. Auch die Anwendung von $^3/_{10}$ Molekulargewicht Kaliumchlorid und $^2/_{10}$ Molekulargewicht Natriumchlorid führte eine Herabsetzung in der Saccharoseproduktion herbei.

Diese erzielten Resultate zeigen deutlich, daß Kalium auf die Produktion des Zuckers in der Zuckerrübe einen bedeutenden Einfluß hat und daß das Kalium durch das Natrium durchaus nicht ersetzt werden kann. Beide Chloride, also Kalium- und Natriumchlorid, in entsprechenden Quantitäten angewendet, bewirken die günstigste Zuckerproduktion in der Zuckerrübe.

5. Versuchsreihe.

Über den Einfluß des Kalium- und Natriumchlorids auf die Entwicklung der Zuckerrübe in den einzelnen Vegetationsperioden.

Um das nähere quantitative Verhältnis zwischen Kalium und Natrium festzustellen, in dem die Giftwirkung der einzelnen Komponenten vollständig aufgehoben werden kann, haben wir die Versuche in nachstehender Weise arrangiert.

erhalten. Wir haben die Glaszylinder in 4 Gruppen zu 4 Zylindern eingeteilt. Die I. Gruppe erhielt kein Natriumund kein Kaliumchlorid. Die II. Gruppe erhielt $^{2}/_{10}$ Mg. Natriumchlorid = 11,70 g NaCl; die III. Gruppe erhielt $^{2}/_{10}$ Mg. Kaliumchlorid = 14,92 g KCl; die IV. Gruppe erhielt $^{1}/_{10}$ Mg. Natriumchlorid = 5,85 g NaCl und $^{1}/_{10}$ Mg. Kaliumchlorid = 7,46 g KCl.

I. Stadium.

Gruppe I (ohne Natrium- und Kaliumchlorid	l).
Das Gewicht der Blätter als Trockensubstanz betrug	0,0303 g
das Gewicht des Wurzelsystems als Trockensubstanz	0,0314 g
das Gesamtgewicht der Trockensubstanz	0,0617 g

Gruppe II (mit */10 Molekulargewicht	N	ıtr	iui	mc.	hlorid).
Gewicht der Blätter als Trockensubstanz					. 0,0429 g
Gewicht der Wurzeln als Trockensubstanz					. 0,0313 g
Gesamtgewicht der Trockensubstanz					. 0,0742 g

Gruppe III (mit ³ / ₁₀ Molekulargewicht Kaliumchlorid).
Gewicht der Blätter als Trockensubstanz 0,0472 g
Gewicht der Wurzeln als Trockensubstanz 0,0361 g
Gesamtgewicht der Trockensubstanz 0,0833 g
Gruppe IV (mit je 1/10 Molekulargewicht Natrium- und Kaliumchlorid).

Gewicht der Blätter als Trockensubstanz			. 0,1463 g
Gewicht der Wurzeln als Trockensubstanz			. 0,0459 g
Gesamtgewicht der Trockensubstanz			. 0,1922 g

II. Stadium.

Die Entwicklung der Zuckerrübe nach 54 Tagen.

Gruppe I (ohne Natrium- und Ka	liu	ım	chi	lor	id).
Gewicht der Blätter als Trockensubstanz				•	. 0,0635 g
Gewicht der Wurzeln als Trockensubstanz					. 0,0558 g
Gesamtgewicht der Trockensubstanz					. 0,1193 g

Gruppe II (mit ² / ₁₀ Molekulargewicht	Natriumchlorid).	
Gewicht der Blätter als Trockensubstanz	0,0888 g	,
Gewicht der Wurzeln als Trockensubstanz	0,0872 g	,
Gesamtgewicht der Trockensubstanz	0,1760 g	

Gruppe III (mit ² / ₁₀ Molekulargewicht Kaliumchlorid). Gewicht der Blätter als Trockensubstanz 0,1164 g Gewicht der Wurzeln als Trockensubstanz 0,0887 g Gesamtgewicht der Trockensubstanz 0,2051 g Gruppe IV (mit je ¹ / ₁₀ Molekulargewicht Natrium- und Kaliumchlorid). Gewicht der Blätter als Trockensubstanz 0,3301 g
Gewicht der Biatter als Trockensubstanz 0,5301 g Gewicht der Wurzeln als Trockensubstanz 0,2088 g Gesamtgewicht der Trockensubstanz
III. Stadium. Die Entwicklung der Zuckerrübe nach 76 Tagen.
Gruppe I (ohne Natrium- und Kaliumchlorid). Gewicht der Blätter als Trockensubstanz 0,832 g Gewicht der Wurzeln als Trockensubstanz 0,5063 g Gesamtgewicht der Trockensubstanz
Gruppe II (mit $^2/_{10}$ Molekulargewicht Natriumchlorid Gewicht der Blätter als Trockensubstanz 1,2418 g Gewicht der Wurzeln als Trockensubstanz 0,7418 g Gesamtgewicht der Trockensubstanz , 1,9836 g
Gruppe III (mit ² / ₁₀ Molekulargewicht Kaliumchlorid). Gewicht der Blätter als Trockensubstanz 1,5708 g Gewicht der Wurzeln als Trockensubstanz 0,8205 g Gesamtgewicht der Trockensubstanz 2,3913 g
Gruppe IV (mit je ¹ / ₁₀ Molekulargewicht Natrium- und Ka- liumchlorid).
Gewicht der Blätter als Trockensubstanz 1,5969 g Gewicht der Wurzeln als Trockensubstanz 0,9900 g Gesamtgewicht der Trockensubstanz 2,5869 g
Die erzielten Resultate sind sicherlich von weit- tragendem Interesse. Bei allen Stadien der Entwick- lung der Zuckerrübe ist deutlich zu sehen, daß Kalium- chlorid eine merkliche Vermehrung der Pflanzenmasse bewirkt gegenüber dort, wo überhaupt kein Kalium- und Natriumchlorid und auch wo nur bloß Natrium-

chlorid zugesetzt wurde. Natriumchlorid allein trägt

schon viel weniger als Kaliumchlorid zur Erhöhung der Pflanzenproduktion bei. Im I. und II. Entwicklungsstadium wird sowohl durch Kalium-als auch durch Natrium-Chlorid, wenn diese beiden Komponenten nicht gleichzeitig zur Verwendung gelangen, entschieden keine günstige Wirkung auf das Gedeihen der Zuckerrübe ausgeübt. Wirken aber beide Chloride zusammen, so steigt die Pflanzenproduktion merklich.

Im III. Stadium der Entwicklung, wo die Rübe schon älter ist, wird durch Kaliumchlorid ein günstigerer Einfluß auf die Entwicklung der Zuckerrübe ausgeübt als durch Natriumchlorid. Infolge des Zusammenwirkens beider Chloride im III. Stadium der Entwicklung der Zuckerrübe findet schon keine so wesentliche Erhöhung der Pflanzenproduktion statt wie im I. und II. Entwicklungsstadium.

Die nachstehende Zusammenstellung illustriert am besten die Wirkung der einzelnen Komponenten und das Zusammenwirken beider Chloride.

Im ersten Stadium betrug das Gesamtgewicht der Trokkensubstanz, als nur Natriumchlorid zugegen war. 0,0742 g wenn nur Kaliumchlorid vorhanden war. 0,0833 g bei Gegenwart beider Chloride 0,1922 g

Im zweiten Stadium betrug das Gesamtgewicht der Trokkensubstanz, als nur Natriumchlorid anwesend war . 0,1760 g als nur Kaliumchlorid zugegen war 0,2051 g bei Gegenwart beider Chloride aber 0,5389 g

Außerordentlich auffallend sind die habituellen und noch mehr die anatomischen Zustände, welche die verschieden genährten Rübenpflänzchen zeigten. Diese sollen besserer Übersichtlichkeit halber tabellarisch zusammengestellt werden. Es betrifft dies namentlich die Rübe nach 54 tägiger Entwicklung. Die diesbezüglichen Daten sind in Tabelle V enthalten.

Aus diesen Untersuchungen leuchten besonders folgende Momente hervor:

Tabele V.

		² / ₁₀ Mg. KCl	2/10 Mg. NaCl
1	Die Zahl der Blätter in der Rosette	15	17
2	Davon abgestorben	3	7
3	Beschaffenheit der Blätter	Sehr steif und dick	Weniger steif und dick
4	Farbe	Lamina und Blattstiel bei sämtlichen Blättern freudig grün gefärbt	Lamina bei den jünge- ren Blättern sattgrün, bei den älteren gelblich und rötlich gefärbt. Blattstiele sämtlicher Blätter am Grunde rot angehaucht
5	Lage der Blätter	Aufgerichtet	Alle Blätter, besonders an der Peripherie, nie- derliegend wagerecht ausgebreitet
6	Rand der Blätter	Ziemlich glatt, wenig gekraust	Ziemlich gekraust
7	Epidermis	In frischem Zustande sehr schwer und nur in kleinen Stückchen ab- lösbar. Erst nach Ver- welken läßt sich die Oberhaut abziehen	Epidermis bei frischem Material leicht und in großen Stücken ablös- bar
8	Dicke der Lamina (Durchschnitt von 30 Messungen)	537 μ	390 μ
9	Größe der Spalt- öffnungen (Durchschnittszahl von 30 Messungen)	18,25 μ Breite 26 μ Länge	16,25 μ Breite 21,25 μ Länge
10	Zellwand der Epi- dermis in der Fläche Dicke der oberen Epidermiszellwand	Sehr dünn, kaum 1,25 μ erreichend 2,5 μ , höchstens 3,8 μ	Auffallend dicker, häufig bis 2,5 μ erreichend 5,0 bis 6,25 μ!
11	Palisaden- parenchym	Reicher an Chlorophyll	Ärmer an Chlorophyll
12	Subepidermales Gewebe des Petiolus	Ringsum reich an Chlorophyll	Auf der morphologischen Oberseite fast frei von Chlorophyll; an der Unterseite ist Chlorophyll vorhanden. Manche Zellen des subepidermalen Gewebes führen Anthozyan

Wie aus der Beobachtung 3, 5, 6, 7 und 8 erhellt,

spielt das Kaliumion eine große Rolle bei der Turgeszenz und somit bei allen mit derselben zusammenhängenden Erscheinungen.

Das Natriumion scheint das Wachstum der Zellwände der Epidermis wesentlich zu beeinflussen. Wir konnten auch bei den mit Natriumchlorid genährten Pflanzen beobachten, daß die äußeren Cuticularleisten an der Spaltseite der beiden Schließzellen stark entwickelt sind, welcher Umstand dann zur stärkeren Bildung gelenkartiger Ansatzstellen der beiden benachbarten Epidermiszellwände führt.

Schließlich geht aus den Untersuchungen 4, 11 und 12 deutlich hervor, daß das Kaliumion die Bildung von Chlorophyll ungemein fördert und dieses somit bei den sich in der Pflanze abspielenden Lebensprozessen, vornehmlich aber bei dem Assimilationsprozesse als einer der Hauptfaktoren anzusehen ist.

Die mikrochemische Untersuchung ergab, daß in beiden Fällen die Lokalisation von Kaliumion in denselben Gewebselementen stattfindet, obschon viel oder wenig Kalium zugegen war.

Die Ausscheidung von CoNaK₂(NO₂)₆H₂O aus dem Kobaltnatriumhexanitrit ist bei den kaliumarmen Pflanzen sehr gering, bei denen dagegen, die mit kaliumreichen Nährlösungen beschickt wurden, derart groß, daß das in großer Menge und in großen Krystallmassen ausgeschiedene Kaliumnatriumkobaltonitrit das Schneiden der Präparate direkt verhindert. Die in das Reagens eingelegten Präparate erscheinen wie versteinert.

Nun schreiten wir zur Beschaffenheit der Wurzeln. Was die Dicke der Hauptwurzel anbelangt, so war diese bei den Pflanzen, wo in der Nährlösung $^2/_{10}$ Molekulargewicht Kaliumchlorid vorhanden war, 10 mm, und wo $^2/_{10}$ Molekulargewicht Natriumchlorid zugegen war, 7 mm. Die Länge des Wurzelfasernsystems betrug dort, wo Kaliumchlorid zugesetzt wurde, 22 cm, wo Natriumchlorid zugefügt wurde, 18 cm. Von Saccharose wurden durch die mikrochemische Reaktion bei Gegenwart von Kaliumchlorid in der Nährlösung sehr reichliche Mengen, bei Anwesenheit von Natriumchlorid ungemein spärliche Quantitäten nachgewiesen.

Bei unseren Untersuchungen ist aber noch ein anderes Moment aufgefallen. Die inneren Wände der Glasgefäße, in denen sich unsere Sandkulturen befanden, waren bei denjenigen Proben, die mit Kaliumchlorid genährt wurden, von einer dicken Algenschicht umhüllt. Bei den Kulturen, die mit Natriumchlorid genährt wurden, hat sich ein überaus dürftiger Algenanflug gebildet.

Zusammenfassung.

1. Die Chloride von Kalium und Natrium bewirken bei der Zuckerrübe, wenn sie einzeln im Nährboden, bestehend aus Sand und Torf bei gleichem Wassergehalt, vorhanden sind, bis zu einer bestimmten Konzentration ($^{1}/_{10}$ Molekulargewicht auf 1 l) eine Erhöhung sowohl an Pflanzenmasse als auch an Zuckergehalt.

Die Ertragserhöhung bei Kaliumion ist dabei bedeutend größer als die bei Natriumion, so daß eine spezielle Wirkung des Kaliumions auf die energische Bildung der Pflanzenmaterie, sowie Anreicherung des Zuckers ersichtlich wird.

- 2. Höhere Konzentrationen von Natriumchlorid (²/10 Molekulargewicht) machen sich bereits durch eine schädliche Wirkung und Rückgang in der Entwicklung der Zuckerrübe, sowie des Zuckergehaltes bemerkbar; auch das Kaliumchlorid wirkt in einer solchen Konzentration auf das Gedeihen der Zuckerrübe nicht mehr fördernd. Noch größere Mengen von Kaliumchlorid (³/10 Molekulargewicht) verursachen wohl eine Depression der Trockensubstanz und infolgedessen auch der Gesamtmenge des gebildeten Zuckers, üben aber auf den Zuckergehalt der Rübe keinen schädlichen Einfluß aus.
- 3. Eine bedeutende Erhöhung sowohl der Trockensubstanz als auch des Zuckergehaltes wird erreicht, wenn beide antagonistische Salze in entsprechenden Konzentrationen (je $^{1}/_{10}$ resp. $^{2}/_{10}$ Molekulargewicht) zugleich im Nährboden vorhanden sind, wodurch ihre Giftigkeit gegenseitig aufgehoben wird. Es bildet sich eine physiologisch-äquilibrierte Salzlösung, d. h. eine

Lösung, in der die giftigen Wirkungen, die jedes Salz haben würde, wenn es allein in Lösung wäre, durch die antagonistische Ionenwirkung nicht zur Geltung kommen.

Auch die bereits giftige Wirkung von $^{8}/_{10}$ Molekulargewicht KCl wird durch $^{2}/_{10}$ Molekulargewicht NaCl teilweise aufgehoben.

- 4. Calciumcarbonat (*/10 Molekulargewicht) übt in Gegenwart von entsprechenden Mengen von Kaliumchlorid und Natriumchlorid (1/10, 2/10 Molekulargewicht) nicht nur einen günstigen Einfluß auf die Pflanzenproduktion und die Zuckerbildung aus, sondern ist auch imstande, die giftige Wirkung von abnormalen Quantitäten von Kaliumchlorid, oder Natriumchlorid, oder Kaliumchlorid und Natriumchlorid, zu paralysieren. Die größte Produktion an Trockensubstanz und Zucker wird in Gegenwart aller 3 Verbindungen erreicht. Calciumcarbonat begünstigt besonders die Wurzelbildung.
- 5. Calciumchlorid bewirkt auch die Entgiftung der Chloride von Kalium und Natrium, doch macht sich die Wirkung desselben mehr bei der Erhöhung des Zuckergehaltes, weniger bei der Steigerung der Trockensubstanz geltend. Der größte Zuckergehalt der Rübe überhaupt wurde bei Anwendung aller Chloride erreicht.
- 6. Was die Wirkung des Natriumchlorids, resp. Kaliumchlorids in den einzelnen Entwicklungsstadien der Zuckerrübe anbelangt, wurde konstatiert, daß im I. und II. Entwicklungsstadium (27 resp. 54 Tage) sowohl durch Kaliumchlorid als auch durch Natriumchlorid, wenn dieselben nicht gleichzeitig zur Anwendung gelangten, entschieden keine günstige Wirkung auf den ganzen Bau- und Betriebsstoffwechsel ausgeübt wird. Wirken aber beide Chloride zusammen, so steigt die Pflanzenproduktion merklich.

Im III. Stadium (76 Tage) der Entwicklung, wo die Rübe bereits älter ist, ist der Einfluß des Kalium-chlorids günstiger als des Natriumchlorids. Infolge

des Zusammenwirkens beider Chloride im III. Stadium findet schon keine so wesentliche Erhöhung der Pflanzenproduktion statt, wie im I. und II. Entwicklungsstadium.

7. Außerordentlich auffallend sind die habituellen und noch mehr die anatomischen Zustände im II. Entwicklungsstadium, die durch Kaliumchlorid, resp. durch Natriumchlorid, wenn dieselben nicht gleichzeitig zur Anwendung gelangten, hervorgerufen werden.

Bei Kaliumchloridsind die Blätterschönentwickelt, sehr steif, ziemlich glatt, wenig gekraust; Blattspreite und Blattstiele sämtlicher Blätter von sattgrüner Farbe, die Dicke der Lamina beträgt durchschnittlich 537 μ , das Palisadenparenchym, sowie das subepidermale Gewebe des Petiolus ist reich an Chlorophyll, die Epidermis lässt sich im frischen Zustande nur sehr schwer und in kleinen Stückchen ablösen, die Zellwand der Epidermis in der Fläche erreicht kaum 1,25 μ , die Dicke der oberen Epidermiszellwand beträgt höchstens 3,8 μ .

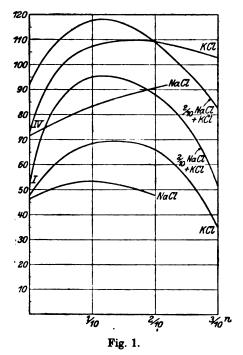
Bei Natriumchlorid sind die Blätter besonders an der Peripherie wagrecht ausgebreitet, weniger steif, ziemlich gekraust, jüngere Blätter sattgrün, ältere gelblich und rötlich gefärbt, Blattstiele sämtlicher Blätter am Grunde rot angehaucht, die Dicke der Lamina beträgt durchschnittlich 390 μ , das Palisadenparenchym ist arm an Chlorophyll, das subepidermale Gewebe des Petiolus auf der morphol. Oberseite fast frei von Chlorophyll, an der Unterseite ist Chlorophyll vorhanden, manche Zellen des subepidermalen Gewebes führen Anthozyan, die Epidermis ist im frischen Zustande leicht und in großen Stückchen ablösbar, die Zellwand der Epidermis in der Fläche auffallend dick, häufig bis 2,5 μ . Die Dicke der oberen Epidermiszellwand beträgt 5 bis 6,25 μ .

Das Kaliumion spielt also eine große Rolle bei der Turgeszenz und somit bei allen mit derselben zusammenhängenden Erscheinungen, ferner fördert das Kaliumion ungemein die Bildung von Chlorophyll und ist bei den sich in der Pflanze abspielenden Lebensprozessen, vornehmlich aber bei dem Assimilationsprozeß als einer der Hauptfaktoren anzusehen.

Das Natriumion scheint das Wachstum der Zellwände der Epidermis zu beeinflussen; die Verdickungen der Außenwände an beiden Schließzellen sind derart

stark entwickelt, daß sich gelenkartige Ansatzstellen der beiden benachbarten Epidermiszellwände bilden.

Im beistehenden Diagramm sind die Resultate der Tabellen I und IV graphisch wiedergegeben. Aus demselben ist ersichtlich, daß in einem Gemische die einzelnen Salze nur mit einem Anteile zur Geltung kommen. Ist der Ertrag E die Konzentration der übrigen Salze $\Sigma(\nu C)$ konstant und die Konzentrationen der auf ihre Wirkung unter-



suchten Salze c1, c2, dann ist für die einfachen Fälle:

$$E_1 = K_1[\Sigma(\nu C) + k_1 c_1] \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad 1)$$

$$E_2 = K_2[\Sigma(\nu C) + k_2 c_2], \ldots 2$$

wo K_1 und K_2 Konstanten sind. In der Kombination beider Salze ist dann der Ertrag:

$$E_8 = K_8 [\Sigma(\nu C) + \alpha_1 k_1 c_1 + \alpha_2 k_2 c_2], \quad . \quad . \quad . \quad 3)$$

wo α_1 , α_2 die Wirkungsgrade der einzelnen Salze sind. Diese Wirkungsgrade sind abhängig von der Dissoziation und wechselseitigen Umsetzung der Salze und der katalytischen Wirksamkeit der Salze.

Der Wirkungsgrad α folgt dann aus der Gleichung 4):

$$\alpha_{1} = \frac{E_{8} - K_{8} \left[\Sigma(\nu C) + \alpha_{2} k_{2} c_{2} \right]}{K_{8} k_{8} C_{8}},$$

wo der Faktor $\Sigma(\nu C)$ die Summe der Konzentrationen der übrigen Salze mit einer Konstante enthält.

Die Konstante K ist eine Funktion der meteorologischen Verhältnisse, während k der Wirkungsfaktor jedes einzelnen Salzes ist.

Über die Resorption des Kalium- und Natriumions durch die Zuckerrübe.

Von nicht minderer Bedeutung ist die Frage, in welchen Mengen das Kalium- und Natriumion aus dem Nährmedium, in dem sich verschiedene Quantitäten Kalium- und Natrium- chloride befanden, resorbiert werden. Zu diesem Behufe führten wir von den Rüben der IV. Versuchsreihe chemische Analysen aus und bestimmten in der sandfreien Trockensubstanz der Wurzeln, sowie der Blattsubstanz die Reinasche. In der Asche wurde dann Kaliumoxyd und Natriumoxyd festgestellt. In Tabelle VI sind die erhaltenen Resultate dieser Analysen verzeichnet.

In der I. Gruppe dieser Versuchsreihe, wo keine Chloride vorhanden waren, fanden wir in der Trockensubstanz sowohl der Wurzeln, als auch der Blätter eine normale Menge von Kaliumoxyd und Natriumoxyd. Bei Zugabe von $^1/_{10}$ Molekulargewicht Natriumchlorid änderten sich die Verhältnisse ganz unbedeutend. Bei Zusatz von $^1/_{10}$ Molekulargewicht Kaliumchlorid hingegen steigt die Menge des Kaliums in der sandfreien Trockensubstanz der Rübe. Eine größere Menge Kalium aber wurde bei Anwendung von $^8/_{10}$ Molekulargewicht Kaliumchlorid resorbiert. Eine Übersicht von der Resorption des Kalium- und Natriumions bietet uns die Tabelle VII, aus der zu entnehmen ist, wieviel eine Rübe von Kalium- und Natriumion während der ganzen Vegetationszeit durchschnittlich resorbiert.

Die größte Menge von Kaliumoxyd, und zwar 2,69 g, wurde in Gruppe VII, wo sich im Nährmedium ¹/₁₀ Molekulargewicht Kaliumchlorid und ¹/₁₀ Molekulargewicht Natriumchlorid befanden, konstatiert. Hieran reiht sich die Gruppe VI, wo im

-

Gruppe	Angewendete Menge von Kalium- und Natrium- chlorid	Rein- asobe der sand- freien Trocken- substanz der Wurzeln %/0	Rein- asche der sand- freien Trocken- substanz der Blätter 'o'o	In der Rein- asche der Wurzeln K ₂ O enthalten	In der Rein- asche der Wurzeln ist Na ₂ O enthalten	In der Rein- asche der Blätter ist KrO enthalten	In der Rein- asche der Blätter ist Na ₃ O enthalten	In der Trocken- substanz der Wurzeln ist K ₂ O enthalten	In der Trocken- substanz der Wurzeln ist Na ₂ O enthalten	In der Trocken- substanz der Blätter ist K ₂ O enthalten	In der Trocken- substanz der Blätter ist Na ₂ O enthalten
Ι	1	2.36	19 88	41 86	6.84	18.68	13 34	0.9878	0.1614	3 709E	9 6510
п	1/10 Mg. NaCl	2,49	18,67	40.04	7,99	20.12	13.26	0.9969	0.1989	3,7564	2,4756
Ш	1/10 Mg. KCl	3,41	19,20	43,10	5,25	20,64	15,71	1,4697	0,1790	3,9628	3,0163
ΔI	1/10 Mg. NaCl	3,56	17,90	44,73	6,59	22,40	13,68	1,5923	0,2346	4,0096	2,4487
A	1/10 Mg. KCl	3,62	20,34	42,57	5,18	20,46	14,37	1,5410	0,1875	4,1615	2,9228
VI	3/10 Mg. KCl	3,34	21,58	46,88	5,29	22,86	14,02	1,5657	0,1766	4,9331	3,0255
VII	1/10 Mg. KCl + 1/10 Mg. NaCl	3,40	20,06	39,02	7,46	19,43	13,99	1,3266	0,2536	3,8976	2,8063
IIIA 20	2/10 Mg. KCl+ 2/10 Mg. NaCl	8,39	14,34	47,26	6,37	20,44	15,06	1,6021	0,2159	2,9310	2,1596
XI	1,10 Mg. KCl + 1/10 Mg. NaCl	3,48	15,02	46,16	1,01	19,68	13,43	1,6063	0,2439	2,9559	2,0171

VIII

28,56

27,45

0,83

0,80

Nährmedium $^3/_{10}$ Molekulargewicht Kaliumchlorid vorhanden waren. Hier wurden 2,51 g Kaliumoxyd aufgenommen. Hierauf kommt Gruppe V an die Reihe, wo im Nährmedium $^2/_{10}$ Molekulargewicht Kaliumchlorid zugegen waren und 2,4 g Kaliumoxyd aufgenommen wurden. Dann kommt Gruppe III, wo sich im Nährmedium $^1/_{10}$ Molekulargewicht Kaliumchlorid befand und 2,32 g K $_2$ O resorbiert worden sind. Die kleinste Menge Kaliumoxyd, und zwar 1,39 g, wurde bei der II. Gruppe aufgenommen, wo im Nährmedium bloß $^1/_{10}$ Molekulargewicht Natriumchlorid vorhanden war.

Was die Resorption vom Natriumion betrifft, so ist sehr interessant, daß auch hier die größte Menge und zwar 1,36 g $\mathrm{Na_2O}$ bei der VII. Gruppe, wo im Nährmedium $^1/_{10}$ Molekulargewicht Kaliumchlorid und $^1/_{10}$ Molekulargewicht Natriumchlorid zugegen waren, resorbiert wurde. Hiernach kommt Gruppe III an die Reihe, wo im Nährmedium $^1/_{10}$ Molekulargewicht Kaliumchlorid vorhanden war. Hier wurden 1,04 g Natriumoxyd resorbiert. Bei den übrigen Gruppen schwankt die Menge des resorbierten Natriums zwischen 0,62 bis 0,95 g Natriumoxyd.

Die von der Blatt Rübe resorbiert g g g g g 28,64 1,05 0,75 47,59 0,07 0,46 1,51 0,82 \mathbf{II} 20,92 62,21 0,78 0,51 0,61 0,111,39 0,62 1,20 30,40 0,91 76,89 0,13 2,32 \mathbf{III} 1,12 IV 28,20 1,12 0,68 63,73 0,14 2,13 1,01 27,89 1,16 0,81 80,71 1,24 0,142,40 0.95VI 26,92 1,32 0,81 76,81 1,19 0,13 2,51 0,94 VII 2,69 41,67 1,62 1,16 81,38 1,07 0,20 1,36

Tabelle VII.

Für die Produktion von 100 g Saccharose in den Rüben sind nachstehende Mengen Kaliumoxyds erforderlich:

81,19

54,74

1,29

0,87

0,17

0,13

2,12

1,67

0,78

0,68

0,61

0,55

Bei der I. Gruppe, wo im Nährmedium kein Kalium-, sowie Natriumchlorid zugegen war, 4,39 g Kaliumoxyd; bei der II. Gruppe, wo im Nährmedium 1/10 Mg. Natriumchlorid anwesend war, 2,89 g Kaliumoxyd; bei der III. Gruppe, wo im Nährmedium ¹/₁₀ Mg. Kaliumchlorid vorhanden war, 4,09 g Kaliumoxyd; bei der IV. Gruppe, wo sich im Nährmedium ²/₁₀ Mg. Natriumchlorid befanden, 4,75 g Kaliumoxyd; bei der V. Gruppe, wo im Nährmedium ²/₁₀ Mg. Kaliumchlorid vorhanden waren, 4,17 g Kaliumoxyd; bei der VI. Gruppe, wo im Nährmedium ³/₁₀ Mg. Kaliumchlorid zugegen waren, 4,61 g Kaliumoxyd; bei der VII. Gruppe, wo im Nährmedium 1/10 Mg. Kaliumchlorid und ¹/₁₀ Mg. Natriumchlorid anwesend waren, 4,75 g Kaliumoxyd; bei der VIII. Gruppe, wo sich im Nährmedium ²/₁₀ Mg. Kaliumchlorid und ²/₁₀ Mg. Natriumchlorid befanden, 3,65 g Kaliumoxyd und bei der IX. Gruppe, wo im Nährmedium $^3/_{10}$ Mg. Kaliumchlorid und $^2/_{10}$ Mg. Natriumchlorid vorhanden waren, 4,12 g Kaliumoxyd.

Berechnen wir nun weiter, wieviel Saccharose in einer Rübe von 1 g Kaliumoxyd produziert wird, so erhalten wir folgende Daten:

	Saccharose
Bei Gruppe I ohne Kalium- und Natriumchlorid im	
Nährmedium	
Bei Gruppe II mit ¹ / ₁₀ Mg. Natriumchlorid im Nähr-	
medium	
Bei Gruppe III mit ¹ / ₁₀ Mg. Kaliumchlorid im Nähr-	
medium	24,44 g
Bei Gruppe IV mit ² / ₁₀ Mg. Natriumchlorid im Nähr-	
medium	21,05 g
Bei Gruppe V mit ² / ₁₀ Mg. Kaliumchlorid im Nähr-	
medium	23,98 g
Bei Gruppe VI mit 3/10 Mg. Kaliumchlorid im Nähr-	
medium	21,69 g
Bei Gruppe VII mit ¹ / ₁₀ Mg. Natriumchlorid und ¹ / ₁₀ Mg.	
Kaliumchlorid	21,05 g
Bei Gruppe VIII mit ² / ₁₀ Mg. Kaliumchlorid und ² / ₁₀ Mg.	
Natriumchlorid	
und bei Gruppe IX mit ³ / ₁₀ Mg. Kaliumchlorid und	
² / ₁₀ Mg. Natriumchlorid	

Diese Zahlen beziehen sich natürlich nur auf den Zuckergehalt der Wurzel der Rübe. In den Blättern wurden die Hexosen sowie die Disacchariden nicht bestimmt. Bei anderen Versuchen bei Vorhandensein aller anorganischen Nährstoffe bestimmten wir nicht nur in dem Wurzelsystem, sondern auch in den Blättern und Stielen den Zucker und fanden, daß 1 g Kaliumoxyd in den einzelnen Vegetationsperioden im ganzen Organismus der Zuckerrübe nachstehende Quantitäten Zucker produziert:

Nach	60	Vegeta	tionst	age	en			5,95 g,
"	95		"					23,40 g,
27	118		77					49,24 g,
"	145		"					51,72 g,
durcl	asch	nittlich	also					32.57 g.

Es ist hier noch ausdrücklich zu erwähnen, daß der Versuchsboden mit Phosphorsäure sowie Stickstoffverbindungen nicht gedüngt war. Das Wurzelsystem der Rübe war nur auf jene Nährstoffe angewiesen, die im Sand und Torf verblieben sind.

Zusammenfassung.

- 1. Die von der Zuckerrübe resorbierte Menge an Kalium- und Natriumion ist am größten, wenn beide Chloride in der Konzentration von je $^{1}/_{10}$ Molekulargewicht im Nährboden vertreten sind; am kleinsten, wenn Natriumchlorid allein in der Konzentration von $^{1}/_{10}$ Molekulargewicht vorhanden war.
- 2. Für die Produktion von 100 g Saccharose waren bei den Versuchen, wo im Nährmedium NaCl und KCl in verschiedenen Konzentrationen einzeln oder gleichzeitig zur Anwendung gelangten, durchschnittlich 4,16 g K₂O erforderlich; 1 g K₂O produzierte dabei durchschnittlich 24,03 g Saccharose.
- 3. Die resorbierte Menge von Natriumion steht in einem gewissen Verhältnis zu dem resorbierten Kaliumion. Wir fanden in den einzelnen Gruppen:

In der I. Gruppe, wo weder Kaliumchlorid noch Natriumchlorid zur Anwendung gelangte, wurden auf 100 g Kaliumoxyd 54,30 g Natriumoxyd resorbiert. In der II. Gruppe, wo ¹/₁₀ Mg. Natriumchlorid verwendet wurde, entfielen auf 100 g Kaliumoxyd 44,60 g Natriumoxyd.

In der III. Gruppe, wo sich im Nährmedium $^{1}/_{10}$ Mg. Kaliumchlorid befand, wurden auf 100 g Kaliumoxyd 44,82 g Natriumoxyd resorbiert.

In der IV. Gruppe, wo $^2/_{10}$ Mg. Natriumchlorid zur Verwendung kamen, entfielen auf 100 g Kaliumoxyd 38,49 g Natriumoxyd.

In der V. Gruppe, wo im Nährmedium $^2/_{10}$ Mg. Kalium-chlorid zugegen waren, wurden auf 100 g Kaliumoxyd 39,58 g Natriumoxyd resorbiert.

Bei der VI. Gruppe mit $^8/_{10}$ Mg. Kaliumchlorid im Nährmedium entfielen auf 100 g Kaliumoxyd 37,45 g Natriumoxyd.

Bei der VII. Gruppe mit $^{1}/_{10}$ Mg. Natriumchlorid und $^{1}/_{10}$ Mg. Kaliumchlorid in der Nährlösung wurden auf 100 g Kaliumoxyd 50,55 g Natriumoxyd resorbiert.

Bei der VIII. Gruppe, woselbst sich in der Nährlösung $^2/_{10}$ Mg. Kaliumchlorid und $^2/_{10}$ Mg. Natriumchlorid befanden, entfielen auf 100 g Kaliumoxyd 36,79 g Natriumoxyd.

Bei der IX. Gruppe mit $^8/_{10}$ Mg. Kaliumchlorid und $^2/_{10}$ Mg. Natriumchlorid wurden auf 100 g Kaliumoxyd 40,71 Mg. Natriumoxyd resorbiert.

Aus diesen Berechnungen erhellt, daß die größte Menge von Natriumoxyd auf 100 g Kaliumoxyd bei Gruppe I entfiel, wo weder Natriumchlorid noch Kaliumchlorid benutzt wurde und das Wurzelsystem der Zuckerrübe die Nährstoffe selbst aus dem ursprünglichen Nährmedium resorbierte. Dann kommt die Gruppe VII an die Reihe. Die kleinste Menge Natriumoxyd entfällt auf 100 g Kaliumoxyd bei Gruppe VIII. Diese Zahlen zeigen ganz deutlich, daß das Natriumion von dem Wurzelsystem deshalb resorbiert wird, um die toxischen Wirkungen, die das Kaliumion in der Pflanzenzelle hervorruft, aufzuheben.

Gewiß ist von großem Interesse, daß selbst in der Trockensubstanz der Samen der Zuckerrübe, befreit von der inneren und äußeren Testa 0,7089 g Kaliumoxyd und 0,2816 g Natriumoxyd vorhanden waren. Es entfallen somit auf 100 g Kaliumoxyd 39,72 g Natriumoxyd.

Bei dem normalen Bau- und Betriebsstoffwechsel der Pflanze existieren in jeder Zelle aller Organe der Zuckerrübe physio-

logisch-äquilibrierte Salzlösungen, in denen durch die antagonistischen Salze die Giftigkeit des Kaliumions vollständig paralysiert wird. In den Chlorophyllapparaten ist das Kalium in großen Mengen in Form löslicher stark ionisierbarer Salze vorhanden.

Durch die Resorption des Kalium- und Natriumions findet ein Austritt von Magnesium- und Calciumion aus dem Wurzelsystem der Zuckerrübe statt. Die Kalium- und Natriumion-Aufnahme kann sich unter Erhaltung der elektrochemischen Gleichgewichte nur dann abspielen, wenn gleichzeitig ein Austritt einer äquivalenten Menge anderer Ionen mit der gleichen Ladung vor sich geht. Die Aufnahme von Kaliumion ist viel stärker als jene von Natriumion. Daß tatsächlich ein Austritt des Calcium- und Magnesiumions stattfindet, wurde durch unsere Experimente bewiesen. Wenn beide Chloride, und zwar das Kalium- und Natriumchlorid, in einer stärkeren Konzentration in dem Nährmedium vorhanden sind, so erfolgt eine gewisse Depression der Permeabilität der Zellen nicht nur der Blätter und Blattstiele, sondern auch der Wurzeln. Die Permeabilität für das Kalium- und Natriumchlorid ist nicht in jeder Jahreszeit gleich. Die Durchlässigkeit der Plasmahaut ist im Frühjahr die größte, im Winter ist sie fast gar nicht zu finden. An Hand der plasmolytischen Methode haben wir uns überzeugt, daß Kaliumchlorid viel schneller hindurchwandert als Natriumchlorid; aber nicht allein von dem Kation hängt die Durchlässigkeit ab. Das Kaliumsulfat und Kaliumphosphat permeiert viel langsamer als Kaliumchlorid und Kaliumnitrat. Bei der Mechanik der Salzaufnahme wird es sich wahrscheinlich nicht allein um Diffussionsvorgänge handeln, sondern auch um typische Adsorptionen an die Zellkolloide.

Das osmotische Gleichgewicht zwischen Blut und Milch. II.1)

Von

F. H. van der Laan.

(Aus dem Laboratorium der Stadt Utrecht für Nahrungsmittelkontrolle.)

(Eingegangen am 9. Dezember 1915.)

In meiner vorigen Mitteilung wurde das Verhältnis zwischen den osmotischen Konzentrationen des Blutes und der Milch — und nebenbei auch der Galle — studiert, wobei es sich herausstellte, daß diese Konzentrationen immer genau gleich sind. Selbst wenn die osmotische Konzentration des Blutes auf künstliche Weise abgeändert wird, bleibt diese Gleichheit völlig bestehen.

Diese Versuche wurden jedoch sämtlich an gesunden Tieren angestellt. Es blieb also noch zu erörtern, ob das osmotische Gleichgewicht unter dem Einfluß von Krankheiten unverändert bleibt.

Es ist beim Menschen festgestellt worden, daß es Krankheiten gibt, nämlich besonders Herz- und Nierenleiden, die ziemlich starke Vergrößerungen des osmotischen Druckes beim Blut, veranlassen wegen der unzureichenden Abscheidung der Produkte des Stoffwechsels. Die Gefrierpunktsbestimmung des Blutes wurde daher bei Nierenleiden angewendet, um festzustellen, ob nur eine oder beide Nieren erkrankt seien. Krankheiten, die zu einer Erniedrigung der Gefrierpunktsdepression Veranlassung geben, sind nicht bekannt.

Wenn nun zwar nicht ohne weiteres angenommen werden kann, daß die beim Menschen festgelegten Erfahrungen auch für die Säugetiere Geltung haben werden, so darf doch wohl

21

¹⁾ Vgl. diese Zeitschr. 71, 289, 1915.

mit großer Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß auch beim Rinde durch Herz- und Nierenkrankheiten die osmotische Blutkonzentration vergrößert sein kann. Besonders wird das der Fall sein, wenn beide Nieren erkrankt sind und die Stoffwechselprodukte in ungenügendem Maße abgeführt werden. Demzufolge müßte in diesen Fällen auch die osmotische Konzentration bzw. die Gefrierpunktsdepression über den normalen Wert ansteigen.

In der Literatur findet man nur sehr selten Gefrierpunkte von Blut kranker Rinder. Die Ursache davon ist, daß dieses Studium mit besonderen Schwierigkeiten verknüpft ist, weil kranke Tiere nicht eben lange gepflegt werden, sondern gewöhnlich baldmöglichst getötet werden, wenn sich Krankheitssymptome zeigen.

Wir waren in der Lage, außer in mehreren Fällen von Eutererkrankungen in 8 Fällen den Gefrierpunkt des Blutes allgemein-kranker Kühe zu bestimmen, wobei die folgenden Zahlen gefunden wurden:

Nr.	Krankheit	Blut ⊿°	Milch ⊿°	Galle
1	Toxamie zufolge einer Pyogenes-Mastitis	0,540		_
2	Sehr starke Konstipation	0,572		
3	Chron. Peritonitis und akute Enteritis .	0,575	l —	0,568
4	Pyelonephritis	0,546	0,547	·
5	Starker Blutverlust durch traumatische	,	,	
	Perforation des Rectums	0,532	0,533	
6	Tuberkulose der Kniefaltendrüsen	0,541	0,539	_
7	Fraktur des Darmbeines (frisch gekalbte	,	1	
	Kuh)	0,554	0,559	
8	Möglichst ausgebreitete Tuberculosis pul-	·	,	
	monum	0,532	0,532	

In den drei ersten Fallen waren die Tiere sehr krank. Die sub 3 genannte Kuh war soporös, entleerte viele wäßrige Faeces. Nach der Schlachtung wurden chronische Peritonitis, gegenseitige Verwachsung der dicken Därme und akute Enteritis derselben festgestellt. Der Darminhalt stank fötid (Tympanitis). Beim Schlachten flossen kaum 0,5 l Blut aus dem Halsschnitte.

Die Kuh Nr. 4 hatte vor 1 Woche gekalbt und wurde seitdem nicht gemolken. Ihr Harn war sehr eiweißreich; dennoch wurde der Bacillus renalis bovis nicht gefunden. Es wurden 125 ccm Milch von gelber Farbe und ölartiger Beschaffenheit gemolken, deren Sediment $(0,5^{\,0}/_{00})$ viele mononucleäre Leukocyten und Lymphocyten, jedoch keine Bacillen enthielt.

Die Kuh Nr. 5 war, wie der Besitzer angab, erst seit 24 Stunden ernstlich krank. Sie gab etwa 1 l Milch von äußerlich normaler Beschaffenheit. Ihr Blut war merklich sehr dünn; all ihre Schleimhäute waren anämisch. Bei der Obduktion stellte es sich heraus, daß das Tier zufolge einer traumatischen Perforation des Rectums sehr viel Blut verloren hatte.

Die unter Nr. 8 angeführte Kuh war so krank, daß sie starb, als sie erschossen werden sollte. Sie hatte im höchsten Grade Atemnot und hustete fortwährend. Nach dem Schlachten zeigte sich eine sehr ausgebreitete Tuberculosis pulmonum, derzufolge das normale Gewebe der Lungen ganz verschwunden war. Die rechte Euterhälfte zeigte eine parenchymatöse tuberkulöse Mastitis; die linke Hälfte, aus der die Milch stammte, wovon der oben angeführte Gefrierpunkt bestimmt wurde, war von normaler Beschaffenheit.

Aus den oben mitgeteilten Zahlen geht hervor, daß die Gefrierpunkte von Blut und Milch auch unter dem Einfluß von Krankheiten den gleichen Wert beibehalten. Weiter liegen auch die gefundenen Werte ganz innerhalb der normalen Grenzen. Nur in einem Fall, worüber später die Rede sein wird, wurde eine merkliche Vergrößerung der Δ des Blutes gefunden, einer allgemeinen Intoxikation zufolge. Dennoch war auch in diesem Falle die Δ der Milch wieder ganz mit der des Blutes identisch.

Interessant ist eine gleichartige Beobachtung Pliesters¹), der bei einer an Milzbrand leidenden Kuh Δ des Blutes zu $0,605^{\,0}$, Δ der Milch zu $0,601^{\,0}$ angibt und also auch hier — ungeachtet der großen Abweichung von den normalen Werten — genau übereinstimmende Zahlen für die Δ fand.

Mögen zwar die Angaben über die Gefrierpunkte von Blut und Milch kranker Kühe noch sehr wenig an Zahl und die Vergrößerung dieses Materials sehr erwünscht sein, so kann doch schon jetzt mit großer Wahrscheinlichkeit behauptet werden, daß Krankheiten nur eine Zunahme, niemals eine Abnahme

¹⁾ Chem. Weekbl. 12, 354, 1915.

der Gefrierpunktsdepression beim Blut hervorrufen werden. In den durchaus meisten Fällen wird jedoch eine allgemeine Krankheit keinen Einfluß auf den absoluten Wert des Gefrierpunktes ausüben, die Gleichheit der Gefrierpunkte von Blut und Milch wird sie niemals aufheben. Auch die in den folgenden Seiten mitgeteilten Zahlen werden diese Behauptung noch mehr erhärten.

Für die Praxis der Milchkontrolle ist diese Erfahrung deshalb sehr wichtig, weil vielfach versucht wird, die durch Wässerungen verursachte Abnahme von \(\Delta \) bei der Milch irgendeiner Krankheit der Kühe zuzuschreiben.

Der Einfluß von Eutererkrankungen auf Δ von Milch und Blut.

Den Einfluß von Eutererkrankungen auf Δ von Blut und Milch zu ermitteln war deshalb wichtig, weil eine Änderung der Δ bei der Milch hier aus zwei Gründen möglich wäre. Einmal würde die Krankheit eine Veränderung der Δ des Blutes und — demzufolge — der Δ der daraus isosmotisch abgeschiedenen Milch hervorrufen können, ein andermal würde das Gesetz der isosmotischen Abscheidung durch die Krankheit des Eutergewebes aufgehoben sein und dadurch die Sekretion einer Milch erfolgen können, deren Δ von der normalen Δ des Blutes abweicht.

Wir waren in der Lage, von vielen euterkranken Kühen die Milch, in mehreren Fällen auch das Blut untersuchen zu können. In der Mehrzahl stammten diese Flüssigkeiten von Kühen mit Streptokokken-Mastitiden; nur in zwei Fällen war die Mastitis von tuberkulöser Art.

Ich lasse die Gefrierpunkte von Blut und Milch euterkranker Kühe folgen und füge einige Daten hinzu, woraus die sehr abnormale Zusammensetzung des Sekretionsproduktes hervorgeht.

Nur mit Ausnahme des erstgenannten Falles war das Abscheidungsprodukt des kranken Euterviertels immer in hohem Grade abnormal und sah gar nicht mehr der Milch ähnlich. Auch aus den mitgeteilten Analysenzahlen geht aufs deutlichste hervor, wie sehr die Zusammensetzung sich geändert hatte. In den meisten Fällen war die Lactose ganz verschwunden und

-					Miloh	Blut		
Nr.	Krankheit	Milch ⊿º	Blut ⊿°	Lac- tose	Asche	NaCl	Asche	NaCl
1 2	Umkapselter Euterabsceß Gesunde Kuh, seit etwa 6 Wochen	0,560	0,559					
2	trocken. Sekretionsprodukt rosa-braun mit viel Sediment, worin nur vereinzelte rudimentäre Streptokokken. Infektion wahrscheinlich während des Trocken-Stehens	0,544	0,540					
3	Sehr kranke Kuh; Temp. 39,8°. Sie kann nicht mehr aufstehen. Euter und Leber stark angeschwollen. Eutersekret sieht harnähnlich aus, enthält viel TbcBacillen. Akute Miliar-							
4	tuberkulose des Euters Euterentzündung. Sekret des Euters ist serumähnlich und zeigt große Caseinflocken und	0,581	0,532	0	0,75	0,55	0,72	0,52
5	Fibrin	0,530	0,562					
0	Milchproduktion, die nach dem Kalben an einer perakuten Mastitis erkrankte und deshalb 24 Std. später in sehr krankhaftem Zustande geschlachtet wird. Sie ist soporös. Temp. jedoch 39,2°. Das Sekretionsprodukt eines Viertels ist schokoladenbraun gefärbt, dünnflüssig und zeigt hohen Sedimentgehalt, worin nur Grampos. Kokken in großer Zahl, vereinzelt in Ketten von 2 bis 5 Gliedern verbunden	0.604	0,598	0.2	0.87	0.53		
6	Streptokokken-Mastitis. Stark flockige Milch mit vielen							
.7	StreptMastitidis Sehr kranke Kuh mit sehr ausgebreiteter Tubercul. pulm. In der rechten Euterhälfte eine parenchymatöse tuberkulöse Mastitis. Die linke Euterhälfte ist frei von Tbc.; nur in der Lymphdrüse befindet sich ein winziger tuberkulöser Herd. Das Sekret des r. HViertels sieht harnähnlich aus. Eiweißgehalt 6,1%.		0,548 0,532					0,55

kamen die Gehalte an Asche und Chlor denen des Blutserums gleich. Dennoch wurde der Gefrierpunkt dieser abnormalen Produkte immer innerhalb der normalen Grenzen gefunden mit nur einer Ausnahme (Nr. 5). In diesem Falle war jedoch das Tier sehr krank zufolge einer allgemeinen Intoxikation, die als Folge der perakuten Mastitis auftrat. Demzufolge lag der Gefrierpunkt des Blutes sehr merklich tiefer als normal, doch zeigte das aus diesem Blute abgeschiedene Sekretionsprodukt denselben Gefrierpunkt wie das Blut. Auch dieser Fall beweist also, daß die heftigsten Euterentzündungen das Gesetz der isosmotischen Abscheidung nicht aufheben.

Die Tatsache, daß die Zusammensetzung der Milch infolge Euterentzündungen sich mehr und mehr der des Blutserums nähert, hat man versucht so zu deuten, daß man voraussetzte, die Sekretion würde nach und nach von einer Filtration ersetzt. Mit dieser Auffassung, deren Richtigkeit dahingestellt bleiben mag, stimmt die Erfahrung, daß sich der Gefrierpunkt infolge dieser Entzündungen nicht ändert, denn das Filtrationsprodukt muß denselben Gefrierpunkt haben wie das Blutserum und kann also die osmotische Konzentration des Sekretes nicht ändern.

Wenn nun Euterentzündungen die Gleichheit der osmotischen Blut- und Milchkonzentration nicht verändern können, müssen die Sekretionsprodukte der kranken Viertel genau denselben Gefrierpunkt aufweisen wie die Milch der gesunden Viertel derselben Kuh. Ich habe mit den folgenden Bestimmungen nachweisen können, daß diese Voraussetzung in der Tat richtig ist (s. die Tabelle).

Nr.	Euterviertel	40	Kata- lase	Sediment	Chlor		Ergebnis der mikro- skop. Untersuchung des Sedimentes	Makro- skopisches Aussehen
1	Kuh v. B. 5							
	R. HV. (krank)		4,5	<u>+</u> 25%	—	_	KurzeStreptMastit. Normal	Dick-flockig
	andere (gesund)	0,545	0,6	0,2 %	-	—	Normal	Normal
	Klinisch	er Befu	ınd: F	k. HVierte	atrop	hisch	und resistent, die üb	rigen
	Viertel norm	al.			-		•	_
2	Kuh v. W.	ı	1	1	l	i	1	
_	Krankes Viertel	0.551	_		l —	_	MastitStrept.	Normal
	Gesunde "	0,542	_	_	 —	_	Normal	id.
3	Kuh P. v. B. 6	ŀ						
	R.VViertel	0,540	4,0	± 50°/ ₀	0,34	—	Sehr zahlreiche	Rosafarbiges Sekret mit sehr
		1					StreptMastit.	viel feinkörn.
	ри	A E 90	4 5	0.50/	0.01		Z-LI- Cimana Mania	Sediment
	R.H "	0,538		2,5 %	0,21	_	Zahlr. StreptMastit.	
		0,537		1,10/00	0,16	—	id.	id.
	L.H n	0,535	3,1	1,1%	0,155	—	id.	id.

Nr.	Euterviertel	⊿∘	Kata- lase	Sediment	Chlor		Ergebnis der mikro- skop. Untersuchung des Sedimentes	
	Klinisch erweisen sich alle Viertel mehr oder weniger krank (Mastitis ohronica).							
4	Kuh F. Krankes Viertel Gesundes "	0,543 0,5 4 2		_	_	_	StreptMastitidis Normal	Normal id.
_	Infektion, de	uh be reine	kam j Strep	post partui tokokken-M	n an Iastitis	eine: folg	m Viertel eine Pyog te.	genes-
5	Kuh v. B. 4 L.VViertel	0 ,530	5,0	3,0°/00	_	-	Sehr zahlreiche StreptMastit.	Normal
	R. V " R. H "	0,530 0,531 0,531	1,5	3,0°/ ₀₀ 0,7°/ ₀₀ 2,0°/ ₀₀	_ _	-	Normal id. Kurze MastitStrept.	id. id. id.
		•					•	
	Klinisch: und resistent		nlich	akute Mast	itis;	alle ,	Viertel teigig geschw	ollen.
6		I	1		1			
	L.HViertel	0,537	4,6	0,5%	-	_	Wenige Strept Mastit.	Normal
	L.V "	0,537		0,7%	_	-	Normal	id.
	R. H "	0,538 0,535		0,9 °/ ₆₀ 0,8 °/ ₀₀	-	_	id. id.	id. id.
1	Der Besitzer deutet das l. HViertel als krank an.							
		tzer d	eutet	das l. HV	iertel	als k	rank an.	
7	Kuh v. D. J. R.VViertel	0,531	1,0	0.90/			Normal	Normal
	R.H "	0,536	4,1	$0.2^{\rm o}/_{\rm oo}$ Mehrere $^{\rm o}/_{\rm o}$	_	_	Normai Fibrinfäden u. zahl-	id.
	25.22. //	0,000					reiche MastStrept.	IG.
	L.∇ "	0,532		0,20/00	_	-	Normal	id.
	L. H "	0,542	3,0	0,8 %	_	_	Vereinzelte Mastit Strept.	id.
	Der Besi	itzer b	ezeich	net uns da	s r. H	Vie	rtel als das kranke.	
8	Kuh B. Z. R.HViertel	0,540	3,8	2,5 %	0,14	3,68	Fibrinfäden und	Normal
	L.H "	0,545	4,1	0,9%	0,13	3,88	MastitStrept.	id.
	R.V "	0,544		Mehrere 0/	0,14	3,46	id.	id.
	L.V "	0,539	3,7	1,9 %	0,125	3,85	Nur Fibrinfäden	id.
9	Kuh Z. 2 (dreistrichig)							
	L.HViertel	0,536		0,5 %		3,66	Normal	Normal
	L.V " R.V "	0,538 0,5 37		3,0 °/00 1,1 °/00	0,17	3,44 —	Zahlr.StreptMastit. Normal	id. id.
10	Kuh T. L.VViertel	0 K00		1 10/			No.	M
	L. H "	0,532 0,533		1,1°/ ₀₀ 0,3°/ ₀₀	_		Normal id.	Normal id.
	R. H "	0,532		$Viel(\pm 1^{\circ}/_{o})$	0,36	0	Sehr zahlr. TbcBac.	

Die Katalaseziffer gibt in vorstehender Tabelle die Sauerstoffmenge an, die sich entwickelt aus einer Mischung von

10 ccm Milch und 5 ccm $^{1/2}_{2}$ $^{0}/_{0}$ iger $\mathrm{H_{2}O_{2}}$ -Lösung in Gärröhrchen bei 35 bis 36° innerhalb 6 Stunden. Das geschlossene Bein der gebrauchten Röhrchen mißt + 12 ccm.

Das Sediment wurde in sog. Trommsdorffschen Röhrchen bestimmt (Tourenzahl der Zentrifuge 3000). Es wurde mittels capillär ausgezogener Glasröhren aufgesogen, auf Objektträger ausgestrichen und mit Löfflerschem Methylenblau gefärbt. Der Chlorgehalt der Milch wurde nach Volhard bestimmt, nachdem Casein und Fett durch Ansäuern mittels Salpetersäure entfernt worden waren; der Lactosegehalt wurde nach Schoorl auf jodometrischem Wege bestimmt (Methoden des Niederländischen Codex Alimentarius).

Die oben mitgeteilten Gefrierpunkte beweisen wohl mit vollkommener Sicherheit, daß die osmotische Konzentration der Sekrete der verschiedenen Viertel immer die gleiche ist, selbst wenn ihre Zusammensetzung bedeutend auseinandergeht. Die osmotische Konzentration der Milch bleibt ungeachtet einer Mastitis genau gleich der osmotischen Blutkonzentration, und also müssen auch die osmotischen Konzentrationen bzw. die Depressionen der Sekrete der verschiedenen Viertel untereinander genau denselben Wert haben.

Weiter bestätigt die vorstehende Tabelle, die sich noch mit vielen ähnlichen Beispielen verlängern ließe, daß die Gefrierpunktsdepression des Eutersekretes bei Euterentzündungen den normalen Wert beibehält, solange die Mastitis keine allgemeine Intoxikation hervorruft, welche die osmotische Blutkonzentration erhöht. Nur in diesen Fällen, die nur sehr selten vorkommen werden, und wobei das Tier immer so sehr erkrankt sein wird, daß die Milchsekretion praktisch ganz aufhört, muß auch bei der Milch eine vergrößerte Depression auftreten.

Dieses Ergebnis erscheint mit den Resultaten anderer Untersucher nicht in Übereinstimmung. Zwar werden öfters bei der Milch aus kranken Vierteln ganz hormale Depressionen angegeben, doch begegnet man in der Literatur mehrmals Werten, die weit außerhalb der normalen Grenzen liegen, und zwar in der Regel nach oben, nur in sehr wenigen Fällen auch nach unten davon abweichen.

Abnorm hohe Gefrierpunktsdepressionen werden angegeben

von Parmentier1) (bis 0.860), Schnorf2) (von 0.5650 bis 0.810). Crispo⁸) (bis 0,86°), Lam⁴) (zwei Fälle von 0,61° und 0,64°), Guirand und Laserre⁵) (0.59° bis 0.61° in drei Fällen von Tuberkulose) und Pliester⁶) (bis 0.652°). Ob nun in diesen Fällen auch die \(\Delta \) beim Blut des Rindes, wovon die Milch stammte, vergrößert war, steht nicht fest, weil diese Bestimmungen fehlen. Ich glaube, daß die Erklärung jedoch in den weitaus meisten Fällen eine andere sein muß, und zwar die Beimischung von Stoffen, die durch Einschmelzung des Eutergewebes entstanden sind (also von Eiter usw.). Dies wird bei tief eingreifenden Prozessen (Mischinfektionen, chronischen Pyogenes-Mastitiden) vorkommen können. Die Gefrierpunktsdepression derartiger eiterähnlichen Stoffe ist nämlich in der Regel viel größer als die der Milch. Ritter?) fand z. B. die △ des Eiters verschiedener Herkunft zu 0,531 0 bis 1,444 0, und zwar wurden die kleineren Werte bei kalten Prozessen konstatiert.

Die folgende Probe macht diese Annahme noch mehr wahrscheinlich. Bei einer Kuh mit weit fortgeschrittener Pyogenes-Mastitis wurden aus dem kranken r. H.-Viertel 15 ccm dicker Eiter herausgedrückt; dieser wurde mit 25 ccm normaler Milch aus den gesunden Vordervierteln der Kuh gemischt. Die gesunde Milch zeigte eine Δ von 0.54° , während die Eiter-Milchmischung eine Δ von 0.727° besaß.

Auch die folgende Beobachtung kann zur Erhärtung der obengenannten Auffassung beitragen.

Es wurde bei zwei Kühen mit weit vorgeschrittenen Euterentzündungen je eines Euterviertels aus diesen kranken Vierteln ein rosafarbiges Sekret gemolken, das sofort nach dem Melken noch ganz dünnflüssig, beim kurzen Stehen an der Luft sich in eine dicke faserige Masse umwandelte. Bei mikroskopischer Betrachtung wurden in beiden Fällen sehr viel Detritus und

¹⁾ Rev. gén. du lait 1904, 193, 217, 241, 268.

²⁾ Dissert. Zürich 1905.

³⁾ Industrie laitière belge 6, 249, 1905.

⁴⁾ Compt. rend. du XI. Cong. int. de Pharm. (La Haye) 1913, II, 1058.

⁵) Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. 139, 452, 1904.

⁶⁾ l. c.

⁷) Arch. f. klin. Chir. 68, Heft 2, 1902.

Mastitis-Streptokokken gefunden. Diese Kühe waren seit einigen Tagen nicht gemolken worden. Die Gefrierpunktbestimmung lieferte die folgenden Werte:

1. Fall 2. Fall Sekret aus dem kranken Viertel $\Delta = 0.568^{\circ}$; 0.563°, Milch aus dem gesunden Viertel $\Delta = 0.535^{\circ}$; 0.535°.

Also wurde bei den abnormalen Sekreten eine kleine, jedoch unverkennbare Vergrößerung der Δ konstatiert, die durch die Beimischung der relativ großen Menge Detritus eine ungezwungene Erklärung finden kann.

Wenn also nicht das Sekretionsprodukt der — wenn auch kranken — Drüse zur Untersuchung gelangt, sondern eine Mischung davon mit mehr oder weniger Detritus oder Eiter, so wird man eine vergrößerte Δ finden. Daß diese Erklärung wenigstens in einigen der obengenannten Fälle richtig sein muß, folgt z. B. daraus, daß Crispo l. c. erwähnt, daß der pathologische Zustand einer Milch mit stark vergrößerter Depression schon aus dem ekelerregenden Duft derselben hervorging. Nun riecht aber das Produkt eines an Mastitis erkrankten Euters gar nicht, jedenfalls nicht ekelerregend, so daß sehr wahrscheinlich der unangenehme Duft einer Beimischung von Eiter zugeschrieben werden muß. Auch eine der beiden von Lam l. c. mitgeteilten Milch mit vergrößerter Depression stammt von einer Kuh mit einer purulenten Mastitis, so daß auch in diesem Fall leicht Eiter beigemischt worden sein kann.

Außer auf diese Beimischung fremder — nicht sezernierter — Stoffe möchte ich noch auf einen anderen Umstand hinweisen, der vielleicht in mehreren Fällen zu abnormalen Depressionen Veranlassung gegeben hat, nämlich auf die Umsetzung der Milch durch Bakterienwachstum. Derartige Prozesse können bei Milch aus kranken Vierteln eben deshalb leicht eintreten, weil diese Milch im Euter vielfach schon mit massenhaften Bakterienmengen verunreinigt wird. Die dadurch erfolgten Umsetzungen werden immer zu Vergrößerungen der osmotischen Konzentration Veranlassung geben; weil sie jedoch der Milch keine saure Reaktion zu verleihen brauchen, können sie leicht verborgen bleiben. Bei meinen Untersuchungen stieß ich auf einen derartigen Fall. Die Milch aus einem kranken Euter, die nach dem Melken etwa vier Stunden bei Zimmer-

temperatur gestanden hatte, zeigte bei der Gefrierpunktsbestimmung eine Δ von $0,605^{\circ}$, indem das Blut der Kuh, von der die Milch stammte, eine normale Depression aufwies. Bei genauer Betrachtung stellte es sich heraus, daß die Milch schon in der kurzen Zeit verdorben war durch die schnelle Entwicklung eines Bacillus, der ihr auch schon einen abweichenden Duft verliehen hatte, ohne jedoch ihren Säuregrad bedeutend zu erhöhen. Man hat also bei der Untersuchung derartiger kranker, bakteriell stark verunreinigter Milch für eine unverzügliche Bestimmung Sorge zu tragen.

Nur äußerst gering sind die Mitteilungen, worin über kleinere als normale Depressionen bei der Milch kranker Kühe die Rede ist. Ich habe deren nur insgesamt vier Fälle auftreiben können. Sie wurden mitgeteilt durch Parmentier1) (ein Fall), Koning²) (ein Fall), Monvoisin³) (drei Fälle) und Crispo4) (ein Fall). Die Richtigkeit dieser Wahrnehmungen ist jedoch nicht über allen Zweifel erhaben. So teilt Koning mit, daß die d der Mich aus zwei kranken Eutervierteln 0,490 war, indem die 1 der Milch aus den normalen Vierteln der Kuh zu 0,55° bzw. 0,56° gefunden wurde. Nach allem was ich oben darüber mitgeteilt habe, darf angenommen werden, daß diese Wahrnehmungen entschieden unrichtig sein müssen. Die drei abnorm kleinen Depressionen Monvoisins ($\Delta = 0.51^{\circ}$) werden gefunden bei Milch euterkranker Kühe, die so weit abgeändert war, daß die Lactose daraus völlig verschwunden war. Monvoisin teilt aber mit, daß er bei seinen Bestimmungen eine Unterkühlung anwendete von nur 0,2°. Damit ist es jedoch ausgeschlossen, richtige Zahlen zu bekommen. Von den zwei Fällen, die von Parmentier und von Crispo beschrieben sind (der letztere fand bei einer tuberkulösen Mastitis eine ∆ zu 0,48°), ist mir nichts Näheres bekannt. Ich möchte jedoch darauf hinweisen, wie leicht eine winzige Wasserbeimischung zu diesen krankhaften Produkten, die gewöhnlich nur in sehr kleiner Menge erhältlich sind, eine abnormale Depression vortäuschen kann.

¹⁾ l. c.

⁸) Chem. Weekblad 1909, Nr. 44.

³⁾ Journ. de physiol. et de pathol. gén. 12, 50, 1910.

⁴⁾ l. c.

Jedenfalls fällt es schwer — nach allem was oben darüber mitgeteilt worden ist — anzunehmen, daß bei euterkranken Tieren die Gefrierpunktsdepression des Sekretes niedriger sein kann als normal $(0,53^{\circ})$.

Zum Schluß noch eine kurze Bemerkung über die von Hamburger¹) gefundenen Differenzen zwischen den Gefrierpunkten der ersten und der letzten Milch aus dem Euter und zwischen dem Rahm und der ihr entsprechenden Magermilch. Hamburger gibt an, daß die △ bei der ersten fettarmen Milch immer etwas kleiner ist als bei der zuletzt gemolkenen fettreichen Milch aus dem Euter, und ebenso, daß die Depression der Magermilch geringer ist als die des Rahmes. Nun sind die Differenzen, die Hamburger im erstgenannten Falle fand, so klein, daß sie ganz innerhalb der Fehlergrenzen liegen, die - wie auch Hamburger selbst angibt - bei der angewendeten Untersuchungsmethode etwa 0,005° bis 0,01° beträgt. Bei Rahm und Magermilch jedoch sind die Differenzen bedeutend größer und überschreiten den Versuchsfehler. burger behauptet nun, daß mit dem Rahm osmotisch stark wirksame Stoffe emporsteigen.

Diese Erklärung kommt mir nicht richtig vor. Es ist schwer zu verstehen, wie bei einer Milch, worauf sich beim Stehen eine Rahmschicht gebildet hat, die osmotische Konzentration in der oberen Schicht größer sein kann als die der Unterschicht. In der Tat ist das auch nicht der Fall. Differenz, die man zwischen den Gefrierpunkten des Rahmes und der entsprechenden Magermilch findet, verschwindet, wenn man statt der scheinbaren, die wahren Gefrierpunkte berechnet. Die Beckmannsche Korrektur — die man wegen der Konzentrationszunahme zufolge des Ausfrierens von Eis anbringen muß -, ist bei dem fettreichen Rahm viel größer als bei der Magermilch, weil in gleichen Volumina dieser Flüssigkeiten die Menge des Wassers im Rahm bedeutend geringer ist und also die Konzentrationszunahme der flüssigen Phase am Ende der Bestimmung größer sein wird als bei der wasserreicheren Mager-Außerdem muß auch deshalb im Rahm eine relativ größere Eismenge gebildet werden, weil auch noch eine große

¹⁾ Rec. Trav. Chim. 10, 346, 1896.

Menge eines zur Lösung fremden Körpers — nämlich das Fett — über das Temperaturtrajekt der Unterkühlung, also etwa um 1°, erwärmt werden muß.

Zusammenfassung.

- 1. Allgemeinerkrankungen des Rindes heben die Gleichheit der osmotischen Konzentrationen des Blutes und der Milch nicht auf, selbst nicht, wenn die Blutkonzentration der Krankheit zufolge abgeändert worden ist.
- 2. Bei Intoxikationen (infolge von Milzbrand, perakuten Mastitiden usw.) kann die ⊿ des Blutes vergrößert sein. Auch bei Herz- und Nierenleiden ist eine derartige Vergrößerung möglich.
- 3. Krankheiten, die zu einer Erniedrigung der osmotischen Blutkonzentration Veranlassung geben, sind bis jetzt mit Sicherheit nicht bekannt.
- 4. Euterkrankheiten üben auf die Δ der Milch keinen Einfluß aus. Die Δ des Sekretes der kranken Viertel ist genau gleich der des Blutes, also auch gleich der Δ der Milch aus den gesunden Vierteln.
- 5. Die durch verschiedene Autoren mitgeteilten stark vergrößerten Gefrierpunktsdepressionen bei Sekretionsprodukten euterkranker Kühe sind entweder der Beimischung nicht sezernierter Stoffe Eiter, Detriten usw. oder bakteriellen Prozessen zuzuschreiben.
- 6. Der wahre Gefrierpunkt des Rahmes ist identisch mit dem der entsprechenden Magermilch.
- 7. Das Sekretionsprodukt der gesunden oder kranken Milchdrüse des Rindes hat niemals eine kleinere Gefrierpunktsdepression als 0,53°. —
- Herrn J. P. van der Slooten, Tierarzt dieser Anstalt, sage ich auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank für seine wertvolle Unterstützung und fördernde Mitarbeit.

Zur Kenntnis der Eiweißkörper.

III. Zur Bestimmung der Monoaminodicarbonsäuren.

Von

A. C. Andersen und Regitze Roed-Müller.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Kgl. tierärztlichen und landwirtschaftlichen Hochschule, Kopenhagen.)

(Eingegangen am 14. Dezember 1915.)

Bis zu Anfang dieses Jahrhunderts war die Zusammensetzung der Eiweißkörper nur sehr wenig bekannt, indem keine Methode existierte, die eine genauere Untersuchung gestattete. Nachdem aber von Hausmann¹) in Hofmeisters Laboratorium im Jahr 1899 ein Verfahren ausgearbeitet worden war, das ein Aufteilen des Stickstoffs der Eiweißkörper in 3 Fraktionen und somit einen Vergleich verschiedener Eiweißkörper bezüglich ihrer Zusammensetzung ermöglichte, sind immer mehr Methoden hinzugekommen, und wir haben jetzt einen tiefen Einblick in die Zusammensetzung der Eiweißkörper gewonnen, wenn wir auch noch nicht imstande sind, die einzelnen Spaltprodukte der Eiweißkörper sämtlich zu bestimmen.

Die 3 Fraktionen des Eiweißstickstoffs, die von Hausmann bestimmt wurden, waren Amidstickstoff (Ammoniak), durch Phosphorwolframsäure fällbarer Stickstoff und durch dieselbe Säure nicht fällbarer Stickstoff. Die Methode war unvolkommen, wurde aber durch Untersuchungen von verschiedenen Seiten verbessert, und es gelang ferner Kossel und seinen Mitarbeitern²), Methoden auszuarbeiten, durch die der Gehalt des Phosphorwolframsäureniederschlags an Histidin, Arginin und Lysin quantitativ ermittelt werden konnte.

¹⁾ W. Hausmann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 27, 95, 1899.

²) Siehe F. Weiß, Zeitschr. f. physiol. Chem. 52, 114, 1907.

Für die Untersuchung des Filtrats vom Phosphorwolframsäureniederschlag ist es das Verdienst Emil Fischers¹), eine Methode zur Trennung der vorhandenen Monoaminosäuren durch Destillation ihrer Ester im hohen Vakuum ausgearbeitet zu haben. Diese Methode ist aber bei weitem nicht quantitativ und außerdem nur mit großen Mengen durchführbar, wodurch ihre Anwendung sehr beschränkt wird.

Auch die Anwendung von Kossels Methode zur Bestimmung von Histidin, Arginin und Lysin muß als beschränkt bezeichnet werden; zwar ist die Methode nach allem, was bekannt ist, recht zuverlässig: es ist aber notwendig, mit recht großen Mengen (25-50 g) zu arbeiten, und eine Analyse nimmt sehr lange Zeit in Anspruch.

Es war deshalb von großer Bedeutung, als es van Slyke²) gelang, eine Methode auszuarbeiten, die eine mit kleinen Mengen leicht durchführbare und gleichzeitig recht genaue Bestimmung der drei durch Phosphorwolframsäure fällbaren Aminosäuren, Arginin, Histidin und Lysin⁸), gestattete; im Filtrate des Phosphorwolframsäureniederschlags bestimmte er ferner die Menge des Aminostickstoffs, und auf diese Weise ist dann der Stickstoff der Proteine quantitativ in 6 Fraktionen aufgeteilt worden: Ammoniak, Arginin, Histidin, Lysin, Aminostickstoff (Stickstoff von Glykokoll, Alanin, Valin, die verschiedenen Leucine, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Phenylalanin, Tyrosin) und Nicht-Aminostickstoff (Stickstoff von Prolin und Oxyprolin). Das Tryptophan wird bei der Hydrolyse des zu untersuchenden Proteins gewöhnlich in unbekannte Produkte zerlegt und muß deshalb in dieser Beziehung unbeachtet bleiben. Für die Bestimmung des Tryptophans sind aber mehrere Methoden an-

¹⁾ E. Fischer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 33, 153, 1901.

²⁾ D. D. van Slyke, Journ. of Biol. Chem. 9, 185; 10, 15, 1911; 12, 275, 1912.

³⁾ Im Phosphorwolframsäureniederschlag ist bekanntlich auch Cystin enthalten. Die Cystinmenge, die im Niederschlag vorhanden ist, wird nach van Slyke bestimmt, ist aber nur als Korrektur bei den Bestimmungen des Arginins, Lysins und Histidins anzubringen und kann nicht, wie man angegeben finden kann, für eine Bestimmung des Cystins im Eiweiß gelten, denn nach allem, was wir wissen, ist es am wahrscheinlichsten, daß die Hauptmenge des Cystins bei der Hydrolyse unter Abspaltung von Ammoniak zerfällt.

gegeben worden¹), von denen die von Fasal wahrscheinlich am genauesten ist, und somit ist auch diese Aminosäure leicht bestimmbar; d. h. der Stickstoff der Eiweißkörper ist in 7 Fraktionen quantitativ zerlegbar.

Für die Untersuchung des Filtrates vom Phosphorwolframsäureniederschlag haben wir nun versucht, eine Methode auszuarbeiten, die eine Bestimmung der beiden Monoaminodicarbonsäuren gestatten soll. Das Prinzip der Methode ist das folgende: Wenn ein Gemisch von Monoaminosäuren, in Wasser gelöst, mit Natriumhydroxyd so neutralisiert wird, wie für die Ausführung der Formoltitrierung vorgeschrieben ist²), dann sind die Monoaminomonocarbonsäuren frei vorhanden, d. h. weder mit Säure noch mit Base verbunden, während die Monoaminodicarbonsäuren 1 Mol. Base pro 1 Mol. Aminosäure binden. Wird eine solche Lösung zur Trockne verdampft und der trockene Rest vorsichtig verbrannt, dann hinterbleibt eine Menge Natriumcarbonat, die den früher vorhandenen Monoaminodicarbonsäuren äquivalent ist. Wird das Natriumcarbonat durch Lösen in überschüssiger titrierter Salzsäure, Wegkochen der Kohlensäure und Zurücktitrierung mit Lauge bestimmt, so ist auch damit die Menge der Monoaminodicarbonsäuren ermittelt worden.

Um die Neutralisation gegenüber empfindlichem Lackmuspapier zu vermeiden, versuchten wir zuerst in folgender Weise
eine neutrale Lösung herzustellen. Die Lösung der Aminosäuren wurde mit Baryt bis zur stark basischen Reaktion versetzt, mit gasförmiger Kohlensäure übersättigt und schließlich
durch 5 bis 10 Minuten langes Kochen von überschüssiger
Kohlensäure [Kohlensäure der Carbaminosäuren Siegfrieds⁸)]
befreit; vom Baryumcarbonat wurde dann durch ein trockenes
Filter heiß filtriert. Eine Probe des Filtrats hinterließ aber
nach dem Eintrocknen und Veraschen immer mehr Baryumcarbonat, als den vorhandenen Monoaminodicarbonsäuren ent-

¹⁾ H. Fasal, Biochem. Zeitschr. 44, 394, 1912. — W. v. Moraczewski, ebenda 51, 340, 1913. — E. Herzfeld, ebenda 56, 258, 1913. — A. Homer, Journ. of Physiol. 48, IV, 1914.

⁹) V. Henriques und S. P. L. Sörensen, Zeitschr. f. physiol. Chem. 64, 133, 1909.

³⁾ Siehe die Zusammenfassung M. Siegfrieds in L. Asher und K. Spiro, Ergebnisse d. Physiol. 9, 334, 1910.

sprach. Calciumhydroxyd verhielt sich in dieser Beziehung ganz wie Baryumhydroxyd.

Die Zuverlässigkeit des Verfahrens kontrollierten wir durch folgende Versuche. Dabei geschah, wie bei allen anderen Versuchen, das Eintrocknen und Verbrennen in einer Platinschale — das Eintrocknen auf dem Wasserbade, das Verbrennen über einem Spiritusbrenner, damit nicht durch das Glühen der Schale mittels des schwefelhaltigen Leuchtgases ein Teil des Natriumcarbonats in Natriumsulfat übergeführt würde.

1. Ca. 0,5 g Asparaginsäure wurde in ein wenig mehr als der berechneten Menge kohlensäurefreier Natronlauge gelöst und die Lösung mittels Salzsäure genau neutralisiert.

5 ccm der Lösung zeigten einen Gehalt von 5,15 mg N.

- 40 ccm (= 41,20 mg N) hinterließen beim Eintrocknen und Verbrennen eine Menge Natriumcarbonat, die 14,75 ccm $^{n}/_{5}$ -Salzsäure, d. h. 2,8 \times 14,75 = 41,30 mg N entsprach.
- 2. 0,5 g Glutaminsäure wurde in 17 ccm $^{\rm n}/_{\rm 5}\text{-Natronlauge}$ gelöst.

5 ccm der Lösung zeigten einen Gehalt von 13,50 mg N. 10 ccm der Lösung wurden neutralisiert, eingetrocknet und verascht. Die zurückgebliebene Menge Natriumcarbonat entsprach 9,80 ccm ⁿ/₅-HCl == 27,44 mg N statt der aus der Stickstoffbestimmung berechneten 27,00 mg N.

- 3. 0.2 g Tyrosin, 0.2 g Alanin, 0.2 g Glykokoll und 0.4 g Leucin (aus Casein hergestellt) wurden in Salzsäure gelöst, die Lösung genau neutralisiert, eingetrocknet und verascht. Die zurückgebliebene Natriumcarbonatmenge entsprach 0.50 ccm 2 /₅-HCl = 1.40 mg N, trotzdem keine Monoaminodicarbonsäuren vorhanden sind.
- 4. 1,6 g Prolinkupfer wurde in 50 ccm n/5-HCl gelöst, mit Schwefelwasserstoff vom Kupfer befreit, auf dem Wasserbade vom überschüssigen Schwefelwasserstoff befreit, annähernd neutralisiert und auf etwa 30 ccm gebracht.

5 ccm der Lösung enthielten 20,85 mg N.

- 10 ccm (=41,70 mg N) wurden genau neutralisiert, eingetrocknet und verascht. Das zurückgebliebene Natriumcarbonat entsprach $0,20 \text{ ccm}^{\,n}/_{s}$ -HCl =0,56 mg N.
- 5. 0,5 g Glutaminsäure wurde in 17 ccm $^{\rm n}/_{\rm g}$ -Natronlauge gelöst.

5 ccm enthielten dann 12,85 mg N.

10 ccm wurden in einer Platinschale mit 0,2 g Glykokoll, 0,2 g Alanin, 0,2 g Tyrosin und 0,4 g Leucin gemischt. Nach dem Neutralisieren wurde wie oben eingetrocknet und verascht. Das restierende Natriumcarbonat entsprach 9,30 ccm ⁿ/₅-HCl = 26,04 mg N statt der berechneten 25,70 mg.

Es ergibt sich hieraus, daß die Monoaminodicarbonsäuren in der angegebenen Weise leicht bestimmt werden können, wenn sie mit den üblichen Monoaminomonocarbonsäuren gemischt sind. Die Resultate sind ein wenig zu hoch, was darauf hindeutet, daß der gewählte "Neutralisationspunkt" [p $^{\rm H}=6,8^{\,\rm l}$)] eigentlich ein wenig mehr nach der sauren Seite zu verschieben wäre; da die Abweichungen jedoch nur klein sind, haben wir keine Veranlassung gefunden, einen neuen "Neutralisationspunkt" einzuführen.

Von den etwaigen Fehlerquellen bei der erwähnten Bestimmungsmethode seien die folgenden hervorgehoben:

- 1. Ammoniak darf nicht vorhanden sein, denn wenn Natriumcarbonat mit Ammoniumchlorid erhitzt wird, entweicht das Ammoniumcarbonat, und man wird somit zu wenig Natriumcarbonat, d. h. zu wenig Monoaminodicarbonsäure finden. Ammoniak muß daher quantitativ entfernt werden.
- 2. Basisch reagierende Aminosäuren Arginin, Histidin, Lysin geben zu demselben Fehler wie Ammoniak Anlaß und müssen somit auch möglichst quantitativ entfernt werden, d. h. die Fällung mit Phosphorwolframsäure muß möglichst vollständig sein. Vollständig lassen sich diese Aminosäuren jedoch nicht entfernen, da die Phosphorwolframate eine wenn auch geringe, so doch nachweisbare Löslichkeit besitzen; dies wird bewirken, daß die Resultate bei der Dicarbonsäurebestimmung ein wenig zu niedrig ausfallen.
- 3. Cystin wird, wenn es vorhanden ist, zu niedrige Resultate ergeben, indem ein Teil des Schwefels zu Schwefelsäure oxydiert wird und einen Teil des Natriumcarbonats neutralisiert. Nur der sehr kleine Teil des Cystins, der nach der Phosphorwolframsäurefällung in Lösung bleibt²), wird jedoch in dieser

¹⁾ Siehe V. Henriques und S. P. L. Sörensen, Zeitschr. f. physiol. Chem. 64, 133, 1909.

²) Siehe D. D. van Slyke, Journ. of Biolog. Chem. 10, 32, 1911.

Weise wirken können, und der Fehler wird deshalb nur geringfügig sein.

- 4. Stickstofffreie organische Säuren werden selbstverständlich zu hohe Resultate bewirken, indem sie bei der Neutralisation und Veraschung Natriumcarbonat liefern. Über das Vorhandensein solcher Säuren im Eiweißmolekel ist jedoch nichts bekannt¹), wir müssen aber immer mit dieser Möglichkeit rechnen. Da bei der Hydrolyse der Eiweißkörper immer eine sekundäre Spaltung der Aminosäuren eintritt, wodurch Ammoniak gebildet wird, ist es wahrscheinlich, daß in den Hydrolysaten immer kleine Mengen stickstofffreier Säuren vorkommen; davon können aber nur diejenigen, die nicht flüchtig sind, einen Fehler bewirken, und dieser Fehler wird teilweise durch den unter 2 und 3 besprochenen Fehler kompensiert.
- 5. Anorganische Säuren. Bei der Wegschaffung der Phosphorwolframsäure aus dem Filtrat der Phosphorwolframate der Hexonbasen und des Cystins wird gleichzeitig vorhandene Phosphorsäure und Schwefelsäure entfernt. Vorhanden ist dann gewöhnlich nur die Salzsäure, die keinen Fehler bedingt, indem Natriumchlorid, sowie Baryumchlorid über Calciumchlorid siehe unten nicht beim Erhitzen zersetzt wird. Dagegen sind die großen Salzmengen, die nach dem Entfernen der Phosphorwolframsäure vorhanden sind, unbequem, weil sie die Veraschung beschwerlich machen; sie schmelzen leicht und schließen dann unverbrannte Teile der organischen Körper ein. Es ist daher zu empfehlen, die Hauptmenge der Salze zu entfernen, was mit Alkohol leicht geschieht; siehe weiter unten.

Eine Säure, die zu Fehlern Anlaß geben kann, ist die Kohlensäure. Es ist deshalb notwendig, bei der letzten Neutralisation, wie auch bei der Titrierung mit kohlensäurefreien Lösungen zu arbeiten.

6. Anorganische Basen. Bei der von van Slyke angegebenen Arbeitsmethode wird die Lösung des hydrolysierten Eiweißkörpers durch Calciumhydroxyd basisch gemacht, wonach das Ammoniak abdestilliert wird; die weiter zu unter-

¹) Vgl. A. C. Andersen und Regitze Roed-Müller, Biochem. Zeitschr. 70, 450, 1915.

suchende Lösung wird somit erhebliche Mengen Calciumchlorid enthalten. Bei der hier erwähnten Methode zur Bestimmung der überschüssigen Carboxylgruppen darf aber Calciumchlorid nicht vorhanden sein, da es beim Eintrocknen und Glühen etwas Salzsäure abgibt; bei der nachfolgenden Titrierung würde dies einen Salzsäureverbrauch bewirken, d. h. man würde zu hohe Resultate für die Dicarbonsäuren finden. Von anorganischen Basen dürfen also nur solche vorhanden sein, deren Verbindungen mit Salzsäure ohne Salzsäureverlust eingetrocknet und geglüht werden können. Das Vorhandensein des Calciumchlorids ist auch dadurch unbequem, daß man beim Wegschaffen der überschüssigen Phosphorwolframsäure einen Niederschlag von Calciumphosphorwolframat erhält, der amorph und daher sehr schwer auswaschbar ist. Bei dem Infreiheitsetzen des Ammoniaks kann daher entweder Baryumhydroxyd oder auch Alkalicarbonate benutzt werden, und Natriumcarbonat ist dann vorzuziehen, weil Baryt vor dem Fällen mit Phosphorwolframsäure zu entfernen wäre. Dann wird man aber sehen, daß die gefärbten Substanzen, die sonst mit dem überschüssigen Kalk oder Baryt entfernt werden, in Lösung bleiben, um erst mit Phosphorwolframsäure niedergeschlagen zu werden. Bei der Aufarbeitung des Phosphorwolframsäureniederschlags bleiben die gefärbten Substanzen im Baryumphosphorwolframat; hier bleibt auch der sogenannte Huminstickstoff. Auch das Baryumphosphorwolframat, das bei der Aufarbeitung des Filtrats vom Phosphorwolframsäureniederschlag erhalten wird, ist immer stickstoffhaltig.

7. Glucosamin. Durch das Vorhandensein des Glucosamins können mehrere Fehler bewirkt werden. Erstens wird das Glucosamin bei der Hydrolyse unter Reaktion mit Aminogruppen zersetzt werden können¹), wodurch Aminogruppen zerstört werden, bzw. Säuren entstehen können, die mehr Carboxylgruppen als Aminogruppen enthalten und deshalb die Bestimmung der im Eiweißkörper vorhandenen "überschüssigen" Carboxylgruppen illusorisch machen. Zweitens wird das nicht zerstörte Glucosamin im Filtrate vom Phosphorwolframsäureniederschlag und zwar nach erfolgter Neutralisation

¹⁾ Vgl. L. C. Maillard, Compt. rend. 154, 66, 1912; 156, 1159, 1913.

als salzsaures Salz vorhanden sein; es besteht somit die Möglichkeit, daß ein Teil des sonst verbleibenden Natriumcarbonats wie beim Vorhandensein von Ammoniumchlorid verschwindet (vgl. oben) und die Bestimmung zu niedrig ausfällt.

Um zu sehen, welcher von den eben erwähnten Fehlern von der größten Bedeutung sei, wurde der folgende Versuch angestellt:

Zur Verwendung kam eine Lösung von etwa 4 g salzsaurem Glucosamin in 100 ccm Wasser sowie eine Lösung von Monoaminosäuren, die durch Hydrolyse von Zein, Ausfällung mit Phosphorwolframsäure und Entfernung des Phosphorwolframsäureüberschusses mit Natriumhydroxyd und Baryumchlorid wie gewöhnlich hergestellt worden war.

Die Glucosaminlösung enthielt in 5 ccm 12,25 mg N.

Die Aminosäurelösung enthielt in 5 ccm 12,55 mg N, kein Ammoniak; 20 ccm der Lösung lieferten nach Neutralisation und Veraschung eine Natriumcarbonatmenge gleich 4,55 bzw. 4,60 ccm 1 ₆-Salzsäure = 12,74 bzw. 12,88 mg N, d. h. 25,38 bzw. 25,66 0 ₀ des Stickstoffs als Asparagin- und Glutaminsäure.

1.50 ccm Aminosäurelösung +25 ccm Wasser +25 ccm konzentrierter Salzsäure wurden $1^1/_2$ Stunden bei 150^0 autoklaviert und auf dem Wasserbade eingedampft; der Rest wurde in Wasser gelöst, filtriert und auf 100 ccm gebracht.

5 ccm enthielten 6,30 mg N.

20 ccm enthielten 0,65 mg N als Ammoniak = $2.58^{\circ}/_{0}$.

50 ccm wurden mit Natriumcarbonat basisch gemacht und im Vakuum zur Trockne eingeengt; der Rest wurde in Wasser gelöst, wieder eingeengt, dann mit Salzsäure angesäuert und zwecks Entfernung der Kohlensäure wieder etwas eingeengt; dann wurde die Lösung genau neutralisiert (kohlensäurefreie Natronlauge!) in einer Platinschale auf dem Wasserbade eingeengt und schließlich verascht. In dem verbleibenden Rest wurde eine Natriumcarbonatmenge gleich 5,95 ccm $^{\rm n}/_{\rm 5}$ -HCl = 16,66 mg N, d. h. 26,44 $^{\rm 0}/_{\rm 0}$ des Stickstoffs gefunden. Die Vermehrung rührt von der auch durch die Ammoniakbildung angezeigten sekundären Spaltung her.

20 ccm enthielten 24,22 mg formoltitrierbaren Stickstoff.

2. 25 ccm Glucosaminlösung + 50 ccm Wasser + 25 ccm konzentrierter Salzsäure wurden autoklaviert und wie oben

weiter behandelt. Während bei der Autoklavierung der Aminosäurelösung nur eine leichte Braunfärbung eintrat, war die autoklavierte Glucosaminlösung braunschwarz, und eine nicht unwesentliche Menge eines schwarzen Körpers konnte abfiltriert werden; darin wurde nach dem Waschen 1,10 mg N (= $1.8^{\circ}/_{\circ}$ des Gesamt-N's) gefunden.

5 ccm der Lösung enthielten 3,05 mg N.

20 ccm enthielten 7,40 mg N als Ammoniak = $60,66 \, ^{\rm o}/_{\rm o}$ des Gesamt-N's.

50 ccm, wie oben behandelt, lieferten Natriumcarbonat, 0,35 ccm $^{\rm n}/_{\rm 5}$ -HCl entsprechend, gleich 0,98 mg N oder 3,21 $^{\rm 0}/_{\rm 0}$ des Gesamt-N's.

20 ccm enthielten 12,18 mg formoltitrierbaren Stickstoff.

3. 50 ccm Aminosäurelösung + 25 ccm Glucosaminlösung + 25 ccm konzentrierter Salzsäure wurden autoklaviert und wie oben behandelt; auch hier war die Lösung braunschwarz, und ein schwarzer Körper ließ sich abfiltrieren; darin wurden 1,50 mg N gefunden.

5 ccm der Lösung enthielten 9,30 mg N.

20 ccm enthielten 8,55 mg N als Ammoniak, d. h. etwas mehr als in den beiden früheren Versuchen zusammen.

Dagegen lieferte die Bestimmung der überschüssigen Carboxylgruppen pro 50 ccm eine Natriumcarbonatmenge gleich $9.30 \text{ ccm}^{-1}/_{5}$ -HCl = 26.04 mg N, während die Summe der beiden früheren Bestimmungen nur $6.30 \text{ ccm}^{-1}/_{5} = 17.64 \text{ mg N}$ beträgt.

20 ccm enthielten 35,98 mg formoltitrierbaren Stickstoff, die Summe der beiden früheren Bestimmungen beträgt 36,40 mg N, d. h. es ist kein formoltitrierbarer Stickstoff verschwunden.

Es erhellt aus diesen Versuchen, daß die Autoklavierung eines Gemisches von Glucosamin und Aminosäuren mit etwa 3n. Salzsäure eine Neubildung von Carboxylgruppen bewirkt; die hier erwähnte Dicarbonsäurebestimmung ist daher unbrauchbar, wenn reichlich Glucosamin vorhanden ist. Die Glucoproteide können somit in dieser Weise nicht analysiert werden.

Die Ausführung der Analyse gestaltet sich dann wie folgt:

Etwa 5 g des betreffenden Eiweißkörpers, zirka 800 mg N enthaltend, werden mit der 20- bis 25 fachen Menge 3 n. Salzsäure auf dem Wasserbade erhitzt, bis sich alles vollständig oder doch nahezu vollständig gelöst hat; dann wird die Lösung

im Autoklaven bei 150° während $1^{1}/_{2}$ Stunden erhitzt und auf dem Wasserbade möglichst eingeengt.

Der verbleibende Rest wird in Wasser gelöst und die Lösung durch ein kleines Filter in einen 250 ccm Meßkolben filtriert. Nachdem mit Wasser gut nachgewaschen worden ist, wird bis auf 250 ccm mit Wasser verdünnt; durch Verbrennen des Filters nach Kjeldahl läßt sich die ungelöste Stickstoffmenge bestimmen, sie ist aber gewöhnlich so klein, daß sie vernachlässigt werden kann.

In 5 ccm der Lösung wird die Gesamtmenge des Stickstoffs nach Kjeldahl bestimmt, während in 20 ccm die vorhandene Ammoniakmenge bestimmt wird; dies geschieht im hiesigen Laboratorium durch Destillation im Vakuum mit methylalkoholischer Barytlauge¹).

200 ccm werden mit gesättigter Natriumcarbonatlösung versetzt, bis die Reaktion auf Kurkumapapier deutlich basisch ist und dann im Vakuum fast bis zur Trockne eingeengt. Der Rest wird mit etwa 100 ccm Wasser verdünnt und nach Prüfung der Reaktion — wenn nötig, wird etwas Natriumcarbonatlösung zugefügt — wieder fast bis zur Trockne im Vakuum eingeengt.

Der Rest, der jetzt basisch reagieren soll²), wird mit 50 cc m Wasser versetzt und mit Salzsäure neutralisiert; dann werden 27 ccm konzentrierte Salzsäure und 25 g in Wasser gelöste Phosphorwolframsäure zugefügt, und schließlich wird mit Wasser bis auf ca. 300 ccm verdünnt. Durch Erwärmen im siedenden Wasserbade wird dann der Niederschlag vollständig oder nahezu vollständig zur Lösung gebracht und die Lösung 48 Stunden sich selbst überlassen, nach welcher Zeit die wieder abgeschiedenen, jetzt krystallinischen Phosphorwolframate abfiltriert werden.

Zum Filtrieren benutzen wir ein gehärtetes Filter, das in gewöhnlicher Weise in vier Teile gefaltet in einen gewöhnlichen Trichter (keinen Büchnertrichter) gelegt wird, der dann mittels eines Gummistopfens auf einer Saugflasche angebracht wird. Das von van Slyke empfohlene Benutzen einer Büchner-

¹) V. Henriques u. S. P. L. Sörensen, Zeitschr. f. physiol. Chem. 64, 137, 1909.

²) Wenn dies nicht der Fall ist, muß mehr Natriumcarbonat zugesetzt und das Eindampfen im Vakuum wiederholt werden.

nutsche mit einem Filter, der nicht nur den Boden, sondern auch die Wandung bekleidet, können wir nicht empfehlen, da die vielen Falten des Filters das Auswaschen des Niederschlags verlangsamen.

Der gut abgesaugte Niederschlag wird 10 mal mit je 15 bis 20 ccm einer Waschflüssigkeit, die 2,5 °/₀ Phosphorwolframsäure und 3,5 °/₀ Salzsäure enthält, ausgewaschen, wobei jedesmal gut abgesaugt wird. Die Flüssigkeit wird mittels einer Pipette am Rande des Filters herum aufgetröpfelt; mit einem kleinen Spatel werden dann Niederschlag und Waschflüssigkeit tüchtig zusammengerührt, und erst wenn dies geschehen ist, wird abgesaugt.

Der Phosphorwolframsäureniederschlag wird in Lösung gebracht und die Lösung zur Bestimmung von Arginin, Histidin und Lysin verwendet; diesbezüglich wird auf Abderhaldens Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden, 5, S. 1018 ff. verwiesen; nur sei bemerkt, daß wir immer die abfiltrierten und ausgewaschenen Baryumphosphorwolframate an der Luft trocknen ließen, um dann in einem Teil davon die Stickstoffmenge nach Kjeldahl zu bestimmen (Humin-N I).

Das Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlag wird mit Wasser bis auf etwa 1 l verdünnt, mit ein wenig Phenolphthalein und mit Natronlauge bis zu stark roter Farbe versetzt, und dann werden Phosphor- und Wolframsäure durch Baryumchlorid gefällt, ganz wie es bei der Aufarbeitung des Niederschlags geschieht. Da es hier von besonderer Wichtigkeit ist, daß die beiden Säuren quantitativ gefällt werden, muß man dafür Sorge tragen, daß die Flüssigkeit stark alkalisch bleibt, und daß ein nicht zu geringer Überschuß an Baryumchlorid zugefügt wird. Das phosphor- und wolframsaure Baryt wird dann wie oben abfiltriert und mit schwachem Barytwasser chlorfrei gewaschen; auch in diesem Niederschlage wird eine Stickstoffbestimmung gemacht (Humin-N II).

Das gesamte Filtrat wird nun neutralisiert und dann mit einer Menge Salzsäure versetzt, die der gesamten in Arbeit genommenen Stickstoffmenge äquivalent ist und im Vakuum eingeengt, bis reichlich Salz sich abgeschieden hat. Nachdem dann 200 ccm Alkohol zugefügt worden sind und die Mischung 1 Stunde zur Krystallisation gestanden hat, wird das abgeschiedene Natriumchlorid abgenutscht und mehrmals mit $80^{\circ}/_{\circ}$ igem Alkohol gewaschen. Das Natriumchlorid wird dann in Wasser gelöst und ein Teil der Lösung zur Stickstoffbestimmung verwendet. Die Stickstoffmenge, die wir hier fanden, war immer so klein, daß sie unberücksichtigt bleiben konnte; sollte einmal zu viel Stickstoff vorhanden sein, dann muß die wäßrige Lösung mit Salzsäure angesäuert, im Vakuum eingedampft und mit Alkohol wie früher behandelt werden.

Das alkoholische Filtrat wird im Vakuum zur Trockne verdampft, der Rest in Wasser gelöst und die Lösung auf 100 ccm verdünnt.

5 ccm dienen zur Bestimmung des Gesamtstickstoffs nach Kjeldahl.

25, 30 oder 40 ccm — je nach der Stickstoffmenge — werden mit Natronlauge annähernd neutralisiert und auf 50 ccm gebracht; in dieser Lösung bestimmt man dann die Stickstoffmenge, die mit salpetriger Säure nach van Slyke reagiert.

20 oder 25 ccm werden in einer Platinschale genau mit kohlensäurefreier Natronlauge wie zur Formoltitrierung nach Sörensen neutralisiert; als Indicator dient nach Henriques und Sörensen bereitetes Azolithminpapier. Die neutralisierte Lösung wird dann auf dem Wasserbade zur Trockne eingeengt; wenn die Krystallisation eintritt, muß man, um das Eintrocknen zu beschleunigen, mit einem Platindraht in dem gebildeten Brei umrühren. Die trockne Masse wird dann über einem Spiritus-Bunsenbrenner (nach Barthel) verascht. Die Asche wird in einem nicht zu großen Überschuß von n/s-Salzsäure gelöst und mit Wasser quantitativ in einen nicht zu kleinen Erlenmeverkolben aus Jenaglas hinübergespült; die Lösung wird über freier Flamme bis zum Sieden erhitzt und 5 bis 10 Minuten im Sieden gehalten, um die Kohlensäure vollständig auszutreiben. Nach dem Abkühlen wird etwas Phenolphthalein zugefügt und dann mit ⁿ/_s-Natronlauge die überschüssige Salzsäuremenge zurücktitriert; die verschwundene Salzsäuremenge ist den in der ursprünglichen Lösung vorhandenen überschüssigen Carboxylgruppen äquivalent, und wenn diese Carboxylgruppen von Monoaminodicarbonsäuren herrühren, ergibt sich die Stickstoffmenge dieser Säuren durch Multiplikation der verschwundenen Salzsäuremenge in ccm mit 2,8.

Zur weiteren Kontrolle der hier angegebenen Methode war es von Bedeutung, einige der in bezug auf ihre Bausteine am besten untersuchten Eiweißkörper zu analysieren. Wir wählten hierzu die zwei alkohollöslichen Pflanzenproteine Zein und Gliadin, die von Osborne und seinen Mitarbeitern eingehend untersucht worden sind.

Gliadin.

Nach Osborne und Guest¹) enthalten 100 g Gliadin 43,7 g Glutaminsäure und 0,6 g Asparaginsäure, was auf Stickstoff umgerechnet 23,6 bzw. $0.4^{0}/_{0}$, zusammen 24,0 des Gesamtstickstoffs beträgt; nach der oben beschriebenen Methode wurden $24,33^{0}/_{0}$ gefunden. Für das Ammoniak finden Osborne und Guest 24,31, wir aber $27,32^{0}/_{0}$ des Gesamtstickstoffs.

Zein.

Nach Osborne und Liddle³) enthalten $100 \,\mathrm{g}$ Zein $26,2 \,\mathrm{g}$ Glutaminsäure und $1,7 \,\mathrm{g}$ Asparaginsäure, d. h. $15,5^{\,0}/_{0}$ des Stickstoffs sind in Glutaminsäure, $1,1^{\,0}/_{0}$ in Asparaginsäure enthalten, was zusammen $16,6^{\,0}/_{0}$ beträgt. Wir finden nach unserer Methode in zwei Versuchen 17,80 bzw. $18,00^{\,0}/_{0}$ des Gesamtstickstoffs. Für den Ammoniakgehalt finden Osborne und Liddle 18,56, wir aber $20,57^{\,0}/_{0}$ des Gesamtstickstoffs.

Die Übereinstimmung zwischen der Monoaminodicarbonsäuremenge, die nach obiger Methode gefunden wird, und derjenigen, die durch Isolierung der betreffenden Aminosäuren bestimmt wurde, ist somit bei diesen beiden Proteinen — die zu den am besten untersuchten gehören, indem 75% des Stickstoffs sicher bekannt sind — eine so gute, daß man wohl mit der Anwendbarkeit der Methode bei der Untersuchung der Eiweißkörper rechnen darf.

Es sei noch bemerkt, daß wir eine Analyse von "Casein nach Hammarsten" durchgeführt und eine Monoaminodicarbonsäuremenge gleich $17,67\,^0/_0$ des Gesamtstickstoffs gefunden haben, während $100\,\mathrm{g}$ Casein nach Osborne und Guest⁸)

¹⁾ T. B. Osborne u. H. H. Guest, Journ. of biol. Chem. 9, 425, 1911.

²⁾ T. B. Osborne u. L. M. Liddle, Amer. Journ. Physiol. 26, 295, 1910.

³) T. B. Osborne u. H. H. Guest, Journ. of biolog. Chem. 9, 352, 1911.

15,6 g Glutaminsäure und 1,4 g Asparaginsäure enthalten, was 9,5 bzw. $0.9^{\,0}/_{0}$, zusammen $10.4^{\,0}/_{0}$ des Gesamtstickstoffs entspricht, wenn wir für das Casein $15.7^{\,0}/_{0}$ N rechnen. Ob der Unterschied davon herrührt, daß die von Osborne und Guest gefundenen Asparagin- und Glutaminsäuremengen viel zu klein sind 1), oder ob neben diesen Säuren noch andere Monoaminodicarbonsäuren oder sogar stickstofffreie Säuren vorhanden sind, muß natürlich vorläufig dahingestellt bleiben.

Zusammenfassung.

Es ist eine Methode angegeben worden, nach der im Anschluß an die van Slykesche Methode zur Aufteilung des Proteinstickstoffs in mehrere Teile eine neue Fraktion bestimmt werden kann. Diese Fraktion wird als "Monoaminodicarbonsäurestickstoff" bezeichnet. Da aber bei der Bestimmung nicht der Stickstoff, sondern die eine Carboxylgruppe bestimmt wird, ist die Bezeichnung nur dann richtig, wenn außer den erwähnten Säuren keine stickstofffreien Säuren, sowie keine anderen Aminosäuren, die mehr Carboxyl- als Aminogruppen enthalten, im Eiweißmolekel vorkommen; solche Säuren sind aber vorläufig nicht nachgewiesen worden.

Eiweißkörper, die reich an Glucosamin sind, können nicht nach dieser Methode analysiert werden.

¹) Osborne hat eben bemerkt, daß es manchmal sehr schwierig ist, die gesamte Glutaminsäuremenge abzuscheiden; daß die Gewinnung der Asparaginsäure nicht quantitativ ist, ist ja allgemein bekannt.

Einige Bemerkungen über die Hefen-Carboxylase mit besonderer Berücksichtigung ihrer Haltbarkeit in Trockenhefen im Vergleiche zu anderen Hefenenzymen.

Von

Arminius Bau, Bremen.

(Eingegangen am 15. Dezember 1915.)

Inhaltsangabe.

- I. Untersuchungen mit lebender Hefe.
 - 1. Hefe und Leitungswasser.
 - 2. Hefe und Chloroformwasser.
 - 3. Bier in Gärung. 4. Konsumreifes Bier.
- II. Untersuchungen mit Trockenhefen in bezug auf Carboxylase.
 - 1. Versuche mit freier Brenztraubensäure. 2. Versuche mit brenztraubensaurem Natrium.
- 3. Versuche mit gepufferter Brenztraubensäure. III. Untersuchungen mit Trockenhefen in bezug auf
- andere Hefenenzyme. 1. Enzyme, die noch in den Trockenhefen vorhanden waren.

 - a) Invertase; b) Maltase; c) Melibiase; d) Emulsin; e) Amygdalase; f) Lipase; g) Endotryptase.
 - 2. Enzyme, die in den Trockenhefen nicht mehr nachgewiesen werden konnten.
 - a) Zymase; b) Trehalase; c) Katalase; d) Oxydase;
 - e) Reduktase; f) Hefenlab.
- IV. Untersuchungen über die im Bier vorhandenen Enzyme.
 - a) Invertase; b) Maltase; c) Melibiase; d) Trehalase;
 - e) Emulsin; f) Amygdalase; g) Carboxylase; h) Lipase; i) Endotryptase; k) Katalase; l) Oxydase;
 - m) Reduktase; n) Hefenlab.
- V. Zusammenfassung.

Das von C. Neuberg in Hefen aufgefundene Ferment Carboxylase läßt sich durch bestimmte Maßnahmen von der Zelle selbst trennen, denn in Macerationssäften ist Carboxylase mit kräftiger Wirksamkeit vorhanden; auch gelang es Neuberg, sie in ein trockenes weißes Pulver überzuführen, das noch nach Monaten die Spaltung der Brenztraubensäure glatt vollzieht¹).

I. Untersuchungen mit lebender Hefe.

Ob aus der lebenden Zelle dieses Enzym in die umgebende Flüssigkeit diffundiert, war bisher nicht geprüft worden, und deshalb stellte ich hierüber einige Versuche an.

1. Hefe und Leitungswasser.

Eine untergärige Hefe vom Frohbergtypus blieb im Gärkeller bei der Temperatur von 7,2° mit Leitungswasser bedeckt
4 Tage lang stehen. Das Wasser war ein mittelhartes; wenn
ich auch nicht der Ansicht bin, daß dem Wasser von verhältnismäßig normaler Zusammensetzung ein besonderer Einfluß
auf das Lösungsvermögen an Enzymen zuzuschreiben ist, so
teile ich doch den analytischen Befund kurz mit, da Wässer
anderer Beschaffenheit, vielleicht solche, die freie Soda enthalten, ein abweichendes Verhalten zeigen können.

Das Wasser enthielt am 24. IX. 1915, an welchem Tage der Versuch begonnen wurde, auf den Hektoliter berechnet: 0,40 g SiO₂, 0,00 Fe₂O₃, Spur Al₂O₃, 9,44 CaO, 3,20 MgO, 7,50 SO₃, 12,60 Cl bei einem Verbrauch von 0,56 Kaliumpermanganat.

Das über der abgesetzten Hefe stehende Wasser filtrierte man durch Filtrierpapier Schleicher & Schüll "Nr. 602 hart", das nach meinen Untersuchungen ziemlich sicher unverletzte Hefenzellen zurückhält. Das Filtrat wurde mittels Brenztraubensäure geprüft, und zwar gelangten zur Anwendung folgende Lösungen, die 2,2 bis 2,5% der Säure enthielten:

- a) eine mit sekundärem Kaliumphosphat K_3HPO_4 "gepufferte" Lösung,
 - b) eine mit Natriumarsenit Na₂HAsO₃ "gepufferte" Lösung,

¹⁾ Vgl. z. B. C. Neuberg und P. Rosenthal, diese Zeitschr. 61, 172 bis 175, 1914, und C. Neuberg, diese Zeitschr. 71, 31 ff., 1915.

- c) eine mit ⁿ/₄-Natronlauge neutralisierte Brenztraubensäure, die durch Zugabe freier Borsäure "gepuffert" wurde¹), und
- d) die mit $^{n}/_{4}$ -Natronlauge neutralisierte Brenztraubensäure ohne Puffer.

Die gepufferten Lösungen a und b wurden in der Weise dargestellt, daß in einem 50-ccm-Kölbehen etwa 1 ccm Brenztraubensäure abgewogen und mit wenig Wasser verdünnt wurde. Das eine Kölbehen enthielt 1,1890 g Brenztraubensäure. Es wurde mit einer Lösung von Natriumarsenit (Kahlbaum) Na₂HAsO₃ so lange versetzt, bis eine Tüpfelprobe auf Lackmuspapier alkalische Reaktion anzeigte, darauf tropfenweise mit einer stark verdünnten Brenztraubensäurelösung so lange versehen, bis die Reaktion in schwach sauer umschlug, und sodann bis zur Marke mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Das zweite Kölbehen enthielt 1,2534 g Brenztraubensäure, die in derselben Weise mit einer Lösung von sekundärem Kaliumphosphat (käuflich) K₂HPO₄ abgestumpft wurde.

Das filtrierte Hefenwasser wurde mit gleichen Teilen der Lösungen a bis d vermischt. Von den Gemischen a bis c führte man je 2 com in den van Itersonschen Gärapparat²) ein, während das Gemisch d in einem einfachen Kölbchen blieb. Nach der Aufbewahrung im Thermostaten bei 31° während 72 Stunden hatte sich bei den Proben 1 a, b, c keine Spur Kohlensäure entwickelt, die Probe 1 d blieb gegenüber Lackmus neutral. Carboxylase war mithin in dem Hefenwasser nicht vorhanden.

2. Hefe und Chloroformwasser.

Von einer gut gewaschenen, dann abgepreßten untergärigen Hefe wurden 65 g mit 200 ccm destilliertem Wasser und 20 ccm Chloroform verrührt, 3 Tage bei $+0.6^{\circ}$ aufbewahrt und blank filtriert. Die geringe Menge des Filtrates wurde nach der unter 1 a bis d angegebenen Methode geprüft, doch fiel das Ergebnis ebenfalls negativ aus.

¹⁾ Über das Pufferprinzip siehe bei C. Neuberg, diese Zeitschr. 51, 132, 1913 und 71, 26, 1915.

^{*)} Albert Jan Kluyver, Biochemische Suikerbepalingen, S. 59, Leiden 1914; vgl. auch A. Bau, Wochenschr. f. Brauerei 31, 456, 1914 und 32, 153, 1915.

3. Bier in Gärung.

Ein untergäriges Bier in Hochkräusen und ein solches nach beendeter Hauptgärung wurde, da mir eine Zentrifuge zwecks Trennung der Hefe von der vergorenen Würze nicht zur Verfügung stand, mit Chloroform zur Unterbrechung der Gärung geschüttelt, blank filtriert und entkohlensäuert. Die Versuchsanstellung war die gleiche wie oben angegeben, das Resultat gleich Null.

4. Konsumreifes Bier.

Ein helles untergäriges Bier wurde sorgfältig entkohlensäuert und durch Filtrierpapier Schleicher & Schüll "Nr. 602 hart" filtriert. Die Versuche wurden am 29. III. 1915 und am 24. IX. 1915 angestellt. Auch in diesen Proben ließ sich Carboxylase nicht nachweisen; es entwickelte sich weder in den gepufferten Brenztraubensäure-Biergemischen Kohlensäure, noch schlug die Reaktion bei Verwendung von brenztraubensaurem Natrium allein in alkalisch um¹).

Aus diesen Untersuchungen ist der Schluß zu ziehen, daß die lebende Hefenzelle an die umgebende Flüssigkeit Carboxylase nicht abgibt.

II. Untersuchung mit Trockenhefen in bezug auf Carboxylase.

Zur Untersuchung gelangten einige Brauereihefen vom Frohbergtypus, die unter möglichster Erhaltung ihres Enzymvorrates, doch ohne Anwendung besonderer Methoden getrocknet waren. Zwei derselben, eine obergärige und eine untergärige, waren bei Zimmertemperatur im März 1896 an der Luft getrocknet worden, eine untergärige Hefe wurde in dünn ausgebreiteter Schicht am 25. VI. 1903 im Thermostaten bei 25° möglichst entwässert und ein Teil dieser letzteren am 2. X. 1908 allmählich auf 105° erwärmt. Ich bezeichne die Hefen im folgenden als O 1896, U 1896, U 1903 und U 1908.

Da meine Versuche im November 1914 angefangen wurden und sich bis zum Februar 1915 erstreckten, hatten die Hefen O 1896 und U 1896 ein Alter von mindestens 18⁸/₄ Jahren, bei U 1903 betrug dasselbe 11¹/₂ Jahre und bei U 1908 6 Jahre,

¹⁾ Siehe auch Wochenschr. f. Brauerei 32, 190 u. 406, 1905.

344 A. Bau:

nachdem diese letztere als Trockenhefe bereits über 5 Jahre gelagert hatte.

1. Versuche mit freier Brenztraubensäure.

Zur Anwendung gelangte Brenztraubensäure (Kahlbaum) vom spez. Gew. 1,288 bei 17,5°. Es wurden je 2 ccm einer auf 1°/0 verdünnten Säure mit 0,2 g der vier Trockenhefen im Achatmörser verrieben und von dem Gemisch 1 ccm in den van Itersonschen Gärapparat eingesogen. Die Proben standen im Thermostaten 24 Stunden lang bei 31°; nach dieser Zeit hatte sich keine Spur Kohlensäure entwickelt.

Zum Vergleiche wurde frisch abgepreßte Ober- und Unterhefe in derselben Weise behandelt; man erhielt 1 bis 1,2 ccm Kohlensäure, während dieselben frischen Hefen, nachdem sie 14 Tage lang bei — 1° gelagert hatten, auf die freie Säure nicht mehr einwirkten.

Nach Neuberg¹) ist die Carboxylase gegen freie Säure offensichtlich empfindlich. Man hätte annehmen können, daß nur frische, lebenskräftige Hefen freie Brenztraubensäure zu spalten vermögen, doch gelang Neuberg die Zerlegung der Säure mittels des Hefenpräparates Hefanol. Es liegt aber die Möglichkeit vor, daß frische Hefen Stoffe enthalten, die ähnlich wie die "Puffer" von Soerensen wirken; so fand Th. Bokorny²) ein beträchtliches Säurebindungsvermögen bei (frischen) Preßhefen. Diese letztere Eigenschaft dürfte beim Lagern der Hefen durch innere Umwandlungen, vielleicht durch autogene Säurebildung, meist verloren gehen, so daß nur in seltenen Fällen noch Hefenpräparate wie das Hefanol auf freie Brenztraubensäure einwirken.

2. Versuche mit brenztraubensaurem Natrium.

Während Neuberg das Kaliumsalz dieser Säure verwandte, löste ich zu meinen Versuchen 1 ccm Brenztraubensäure unter Beigabe von 12 ccm ⁿ/₁-Natronlauge zu 100 ccm Wasser. Für das wissenschaftliche Ergebnis hat es keine Bedeutung, ob man das Kalium- oder Natriumsalz anwendet. Die Lösung war etwas mehr als 1°/₀ig und reagierte äußerst schwach sauer.

¹⁾ Diese Zeitschr. 36, 80, 1911.

²) Allg. Brauer- u. Hopfenzeitung, Nürnberg, 54, 543 ff., 1914.

a) Es wurden je 2 ccm der Lösung mit 0,3 g der Trockenhefen verrieben und hiervon 1 ccm in den Gärapparat gefüllt. Versuchsdauer 24 Stunden bei 31°.

U 1896	gab	•	•	0,2 ccm	Kohlensäure
U 1903	n			0,2 "	n
U 1908	n			0,2 "	n
O 1896	"			0,0 "	n

Nach der Umsetzungsgleichung

$$CH_aCOCOONa + H_aO = CH_aCOH + NaHCO_a$$

dürfte eigentlich freie Kohlensäure nicht entstehen, doch bemerkt Neuberg¹), daß zwar auch bei Brutschranktemperatur die entwickelte Kohlensäure als Bicarbonat gebunden und in Lösung gehalten wird, daß aber allmählich die Dissoziation des Bicarbonates unter Gasentwicklung stattfindet.

b) Ferner wurden je 10 ccm der eben erwähnten etwa 1°/₀ igen Lösung des Natriumsalzes mit 1,5 g der vier Trockenhefen 24 Stunden lang bei 31° aufbewahrt. Das Gemisch war gegenüber Lackmus alkalisch geworden, es wurde filtriert. Von dem Filtrat titrierte man 2 ccm mit n/₁₀-Schwefelsäure unter Verwendung von Kongorot als Indicator und erhielt folgende Zahlen.

Hefe	n/ ₁₀ -Schwefelsäure cem	Entsprechend Brenztraubensäure g	Brenztraubensäure zerlegt
U 1896	2,25	0,0198	99
U 1903	2,25	0,0198	99
U 1908	2,20	0,0194	97
O 1896	2,00	0,0176	88

In den Unterhefen war somit die Gegenwart der Carboxylase erwiesen, bei der Oberhefe verlief der Versuch II, 2, a) ergebnislos, doch zeigte der Versuch II, 2, b), daß auch hier dieses Enzym zugegen war. Besonders auffallend ist es, daß die Unterhefen auch nach der langen Aufbewahrungszeit noch eine so energische Wirkung auf das brenztraubensaure Natrium ausübten, daß sie dieses fast vollständig zerlegten, während die Oberhefe etwas geschwächt erschien; ich komme hierauf im nächsten Abschnitt nochmals zurück.

¹) C. Neuberg, diese Zeitschr. **36**, 77, 1911. Biochemische Zeitschrift Band 73.

346 A. Bau:

3. Versuche mit gepufferter Brenztraubensäure.

Diese Versuche wurden am 18. Oktober 1915 und an den folgenden Tagen angestellt.

Meine Trockenhefen hatten jetzt ein Alter

bei O 1896 von 19 Jahren 7 Monaten,

wobei zu bemerken ist, daß die letztere nach der Trocknung bei 25° (am 25. VI. 1903) 5 Jahre, 3 Monate, 7 Tage lagerte, bevor sie allmählich auf 105° erhitzt wurde, um nochmals eine Lagerzeit von über 7 Jahren durchzumachen.

Wie schon bei den früheren Versuchen erwähnt wurde, verrührte man je 0,3 g der Trockenhefen mit 2 ccm der gepufferten Lösung und brachte von der Mischung 1 ccm in die van Itersonschen Apparate, die in den auf 31° erwärmten Brutschrank kamen. Nach 24 Stunden ließ man die Apparate auf Zimmertemperatur, die in diesem Falle 16,5° betrug, abkühlen und las unter den üblichen Vorsichtsmaßregeln die entwickelte Kohlensäuremenge ab.

Es waren erzeugt bei:

Hefe	Puffer	CO ₂	Puffer	CO ₉	Puffer	CO ₂
U 1896	K ₂ HPO ₄	0,8	Na ₂ HAsO ₃	0,8	H,BO,	0,7
U 1903	77	1,2	,,	1,6	n	1,5
U 1908	n	0,5	n	0,7	n	0,5
O 1896	n	0	,,	Ó	,	Ò

Aus dem Vergleiche der Versuche mit reinem brenztraubensauren Natrium (II, 2, a) und dieser Probe mit gepufferter Säure ergibt sich, daß meine Trockenhefen, soweit sie untergärig sind, in der ersteren Lösung nur 0,2 ccm Kohlensäure erzeugten, bei Anwendung des Pufferprinzipes aber beträchtliche Mengen mehr Gas entwickelten. In dem letzteren Falle ergaben sich auch deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Hefen, die bei Anwendung des Natriumsalzes infolge der geringen Menge der entbundenen Gasmenge nicht zutage traten. So erzeugte U 1903 bei Anwendung des Pufferprinzipes 1,2 bis

1,6 ccm Kohlensäure, U 1896 dagegen nur 0,7 bis 0,8 ccm. Man könnte versucht sein, anzunehmen, daß beim längeren Lagern der Trockenhefe eine Schwächung der Carboxylase eintritt, indessen ist diese Annahme nicht stichhaltig, weil es sich um zwei ganz verschiedene Hefen handelt, deren ursprüngliche Wirkung auf Brenztraubensäure nicht festgestellt war, weil bekanntlich erst im Jahre 1911 die Carboxylase von Carl Neuberg aufgefunden worden ist.

Die Hefen U 1903 und U 1908 sind dagegen identisch; durch die Erhitzung der Hefe auf 105° war die Carboxylase geschwächt worden, denn bei dieser letzteren Hefe fand man unter den gleichen Bedingungen kaum die Hälfte der Kohlensäuremenge, die mit U 1903 erhalten wurde. Innere Umsetzungen der Hefe mögen beim Erhitzen auf höhere Temperatur beteiligt sein¹), die bei dem Pufferprinzip sich bemerkbar machen, dagegen bei der Verwendung des brenztraubensauren Salzes nicht hervortreten. Denn bei dem Gebrauche des letzteren erzielte ich für U 1908 eine Spaltung der Brenztraubensäure zu 97°/₀, während U 1903 die Säure unter diesen Bedingungen zu 99°/₀ zerlegte, so daß hier nur belanglose Unterschiede zutage traten.

Die Oberhefe O 1896 entwickelte auch bei Anwendung des Pufferprinzipes Kohlensäure nicht. Das Natriumsalz der Brenztraubensäure spaltete sie zu je 88°/0, während es die Unterhefen zu 97 bis 99°/0 zerlegten. Es muß dahingestellt bleiben, ob meine Oberhefe vom Jahre 1896 von vornherein weniger Carboxylase besaß als die Unterhefen, oder ob das Enzym durch innere Umwandlungen der Hefenzelle beim Lagern geschwächt wurde. Mein Versuch darf nicht so gedeutet werden, daß Oberhefen weniger Carboxylase als Unterhefen enthalten, denn Neuberg fand oft bei frischen Oberhefen eine größere Wirksamkeit der Carboxylase als Unterhefen ²).

Aus den vorstehenden Untersuchungen geht hervor, daß die Carboxylase ein sehr widerstandsfähiges Enzym ist, das sich auch noch in fast 20 Jahre lang gelagerten Trockenhefen vorfindet.

¹⁾ Erhöhte Säurebildung?

²) C. Neuberg, diese Zeitschr. 51, 130 und 131, 1913.

III. Untersuchung mit Trockenhefen in bezug auf andere Hefenenzyme.

Die im Abschnitt II erwähnten Trockenhesen prüste ich auch auf die Gegenwart anderer Hesenenzyme und zwar in derselben Zeit vom November 1914 bis zum Februar 1915.

Wie ich schon früher an anderer Stelle¹) bemerkte, waren die Enzyme nicht isoliert worden; meist verwandte ich sie in Verbindung mit den getrockneten Hefenzellen, falls nicht für besondere Fälle die Herstellung eines Hefensaftes notwendig erschien.

1. Enzyme, die noch in den Trockenhefen vorhanden waren.

a) Invertase. Die Hefeninvertase, für die ich früher zum Unterschied von anderen Invertinen den Namen Euinvertase³) vorschlug, gehört zu den widerstandsfähigsten Enzymen, die wir kennen. Von neueren Untersuchungen seien hier nur die Arbeiten von Neuberg³) erwähnt, nach denen die Invertase einer 470 tägigen Hefenautolyse widersteht und auch in Lösung eine beinahe 800 tägige Aufbewahrung bei Zimmertemperatur verträgt.

Der Nachweis der Invertase gelingt leicht, wenn man eine 5 bis $10^{\,0}/_{0}$ ige Rohrzuckerlösung mit der Hefe oder mit Substraten derselben unter Beigabe von Thymol oder Toluol 24 Stunden lang digeriert und das Filtrat mit Fehlingscher Lösung prüft. Bei meinen vier Trockenhefen trat in allen Fällen eine äußerst starke Reduktion zu Kupferoxydul ein.

Es dürfte nicht überflüssig sein, zu bemerken, daß man zu der Zuckerlösung nicht zu viel Hefe oder größere Mengen eines Auszuges derselben zusetzen darf, da man sonst keinen Niederschlag von Kupferoxydul erhält, sondern nur eine Verfärbung der Fehlingschen Lösung. Auf diesen Umstand weist auch Neuberg hin 4).

Selbstverständlich ist es, daß man Hefen oder Hefenpräparate nicht mit Chloroform als Antiseptikum behandeln

¹⁾ Wochenschr. f. Brauerei 32, 141, 1915.

⁹) Chemikerzeitung 19, 1873, 1895.

⁸) Diese Zeitschr. 56, 495, 1913 und 71, 103, 1915.

⁴⁾ Diese Zeitschr. 56, 496, 1913.

Hefencarboxylase in Trockenhefen im Vergl. zu and. Hefenenzymen. 349

darf, da letzteres sich bekanntlich mit Fehlingscher Lösung zersetzt.

Außer auf Rohrzucker wirkt die Invertase auch auf Raffinose ein; ein besonderes Enzym Raffinase kann ich aber nicht anerkennen¹), wenn ich auch in meinem objektiven Bericht in Lafars Handbuch der technischen Mykologie²) Paul Lindners Untersuchungen über den Schizosaccharomyces octosporus Beijerinck, der Raffinase, aber keine Invertase enthalten sollte, erwähnte. Die Versuche Kluyvers²) brachten erneut den Beweis, daß wenigstens vorläufig Gründe für die Annahme eines Enzyms Raffinase nicht vorliegen.

Meine vier alten Trockenhefen spalteten auch kräftig Raffinose; da dieser Zucker ja etwas kostspielig ist, versetzte ich je 5 ccm einer 1º/oigen Lösung dieses Zuckers mit einer geringen Menge der Trockenhefen und einem Körnchen Thymol. Die Lösungen blieben 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen und wurden nach dem Filtrieren mit Fehlingscher Lösung gekocht. Es trat eine reichliche Ausscheidung von Kupferoxydul ein.

b) Maltase. Zum Nachweis der Maltase wurden je 0,5 g der Trockenhefen mit 15 ccm einer 5 $^{0}/_{0}$ igen Maltoselösung unter Beigabe von Thymol 48 Stunden lang im Brutschrank bei 31 0 digeriert und von der Lösung 10 ccm abfiltriert. Zu jedem Filtrat kam 1 g Phenylhydrazin und 1,5 g Essigsäure von $50^{0}/_{0}$; das Gemisch wurde $1^{1}/_{2}$ Stunden im Wasserbad erhitzt und in etwa 150 ccm kochenden Wassers gegossen. In allen 4 Fällen schied sich unlösliches Glucosazon aus, das auf einem bei 105^{0} getrockneten und gewogenen Filter gesammelt, mit kochendem Wasser gewaschen und 2 Stunden bei 105^{0} getrocknet wurde. Dieses so gewonnene Glucosazon ist natürlich unrein, denn es enthält auch die aus den Trockenhefen gelösten und durch Phenylhydrazin wieder niedergeschlagenen Stoffe. Für Vergleichszwecke erschien aber diese vereinfachte Methode brauchbar.

¹⁾ Wochenschr. f. Brauerei 17, 698, 1900.

³) 4, 424, Zeile 32 bis 36.

^{*)} Biochemische Zuikerbepalingen, S. 25 und 26, Leiden 1914. — Wochenschr. f. Brauerei \$2, 141, 1915.

Es wurde gefunde	n:	
------------------	----	--

Hefe	Glucosazon g
U 1896	0,2934
U 1903	0,1998
U 1908	0,1348
O 1896	0,0582

Sämtliche Trockenhefen enthielten demnach Maltase, die somit zu den widerstandsfähigen Enzymen gehört. Sie steht aber in diesem Punkte der Invertase nach, denn im Jahre 1903¹) bemerkte ich:

"Einen Beweis für die Anschauung erblicke ich in einem gelegentlichen Versuch, als ich eine größere Menge bei 35 bis 37° vorgetrockneter Hefe (untergärig) von 22,50°/0 Wassergehalt binnen einer Stunde auf 105° erwärmte; in dieser Hefe war die Maltase wie auch die Melibiase getötet, während für die Invertase noch eine recht energische Wirksamkeit nachzuweisen war."

c) Melibiase. Die Melibiase, die nur in untergärigen Hefen vorkommt, spaltet den Zucker Melibiose²) in d-Glucose und d-Galaktose. Die Notwendigkeit, ein derartiges Enzym anzunehmen, betonte ich bereits im Jahre 1894³); es gelang im folgenden Jahre Emil Fischer und Paul Lindner⁴), sowie mir⁵), den Beweis für die Existenz dieses Enzyms zu erbringen.

Von den Trockenhefen wurden je 0,25 g in 15 ccm einer 5°/0 igen Lösung krystallisierter Melibiose unter Beifügung von wenig Thymol gegeben und die Mischung in der gleichen Weise, wie es im Abschnitt III, 1, b, "Maltase", angegeben wurde, behandelt.

¹⁾ Wochenschr. f. Brauerei 20, 564, 1903.

⁹) A. Bau, Zeitschr. d. Vereins d. deutsch. Zuckerindustrie 54, 481, 1904.

³) Chem.-Zeitg. 18, 1797, 1894.

⁴⁾ Wochenschr. f. Brauerei 12, 959, 1895.

⁵) Chem.-Zeitg. 19, 1873, 1895; Wochenschr. f. Brauerei 12, 1062, 1895; ebenda 20, 560 ff., 1903.

Man erhielt bei

Hefe	Monosazon g
U 1896	0,5480
U 1903	0,6396
U 1908	0,3546
O 1896	0,0000

In den alten Unterhefen war mithin Melibiase von sehr kräftiger Wirksamkeit zugegen, in der Oberhefe fehlte sie, wie nicht anders zu erwarten war. Bei letzterer schied sich nach dem Abkühlen des verdünnten, mit Phenylhydrazin erzeugten Reaktionsgemisches nur Biosazon, also Melibiosazon aus.

d) Emulsin. Das Emulsin, das Amygdalin in Benzaldehyd, Blausäure und Traubenzucker spaltet, wurde von A. Henry und S. J. M. Auld 1) auch in der Hefe aufgefunden.

Bei meinen Versuchen wurden je 1,500 g Amygdalin mit 40 ccm dest. Wassers und 1 g der Trockenhefen ohne Thymol 6 Tage lang im Brutofen bei 31° aufbewahrt. Zum Vergleiche wandte ich auch frisch abgepreßte Ober- und Unterhefe an, von der je 3 g in die Amygdalinlösung kamen.

Nach der Digestion filtrierte man die Lösungen, die schwach nach Benzaldehyd rochen, wusch den Rückstand mit 50 ccm Wasser nach und destillierte vom Filtrat 60 bis 70 ccm ab. Im Destillat bestimmte man die erzeugte Blausäure mit n/10-Silberlösung.

Man erhielt folgende Werte:

Art der Hefe	Gefundene Blausäure g	Zersetztes Amygdalin
U 1896	0,0016	ca. 2,0
U 1903	0,0024	3,0
U 1908	Śpur	gering
O 1896	0,0035	4,4
frische Unterhefe	0,0015	1,9
frische Oberhefe	0,0027	3,4

Es ergab sich somit, daß sämtliche Hefen Emulsin enthielten, allerdings in geringerem Grade, als Henry und Auld

¹⁾ Proc. Roy. Soc. B, London, 76, 568, 1905; vgl. auch auch A. Bau, Wochenschr. f. Brauerei 32, 143 und 151, 1915.

352 A. Bau:

es für englische Oberhefe gefunden hatten, denn bei ihren Versuchen wurden $33^{0}/_{0}$ des Amygdalins zerlegt.

Hervorzuheben ist, daß nach Henry und Auld die Spaltung dieses Glucosids nur durch die Hefe selbst, aber nicht durch wässerige Auszüge aus dieser hervorgerufen wird.

Eine einfache Methode zwecks qualitativen Nachweises des Emulsins gab ich a. a. O. an¹). Dieses Verfahren besteht darin, daß man in homöopathische Gläschen eine etwa 5 % ige Amygdalinlösung gibt, diese mit einer Messerspitze voll abgepreßter bzw. trockener Hefe unter Beigabe von wenig Thymol versieht und die verschlossenen Gläschen im Brutschrank aufbewahrt. Die Lösung wird sodann in ein Reagensgläschen filtriert, das als Destillationsgefäß dient. Das Reagensglas ist mit einem durchbohrten Kork verschlossen, der ein rechtwinklig gebogenes dünnes Glasrohr trägt. Der bei schräger Haltung des Destilliergefäßes abwärts geneigte Schenkel des Glasrohres wird mit Verbandwatte umwickelt, die mit kaltem Wasser getränkt ist. Diese Kühlvorrichtung reicht aus, um etwa 1 ccm Destillat zu gewinnen, das in etwa 0,2 ccm einer Lösung von mit wenig Eisenchlorid versetztem schwefelsauren Eisenoxydul aufgefangen wird.

Das Destillat wird mit verdünnter Natronlauge übersättigt, so daß ein Niederschlag von Eisenhydroxyd entsteht, sodann aufgekocht und mit ⁿ/₁₀-Salzsäure bis zur schwach sauren Reaktion übersättigt. Entsteht ein Niederschlag von Berliner Blau, so ist damit der Beweis für die Gegenwart der Blausäure sowie für die Spaltung des Amygdalins gegeben.

Das Hefenemulsin gehört somit zu einem der widerstandsfähigen Hefenenzyme.

e) Amygdalase. Die Amygdalase wurde von Emil Fischer²) entdeckt. Der Name selbst stammt von R. J. Caldwell und S. L. Courtauld³) her, die nachwiesen, daß das neue Enzym sowohl von der Invertase wie von der Maltase verschieden ist.

Während Emulsin das Glucosid Amygdalin im Sinne der Gleichung

¹⁾ Wochenschr. f. Brauerei 32, 152, 1915.

²) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 27, III, 2989, 1894; 28, II, 1509, 1895.

³) Proc. Roy. Soc. B, London, 79, 350, 1907.

$$C_6H_5$$
. CHCN + $2H_9O = C_6H_5COH + CHN + $2C_6H_{19}O_6$
 $O - C_{19}H_{91}O_{10}$$

spaltet, konnte Emil Fischer bei Verwendung eines wäßrigen Auszuges aus der Hefe diese Hydratisierung in zwei Phasen zerlegen, von denen die eine nach der Gleichung

$$C_6H_6$$
. CHCN + $H_9O = C_6H_6$. CHCN + $C_6H_{19}O_6$
 $O - C_{19}H_{91}O_{10}$ $O - C_6H_{11}O_5$

verläuft. Emil Fischer fand hierbei das Mandelnitrilglucosid auf, das erst durch eine weitere Addition von einem Molekül Wasser in Benzaldehyd, Blausäure und d-Glucose gespalten wird.

Das Mandelnitrilglucosid reduziert ebensowenig wie das Amygdalin Fehlingsche Lösung; wird aber das Amygdalin gespalten, so tritt natürlich der reduzierende Zucker d-Glucose auf.

Zur Darstellung der Hefenauszüge digerierte ich die Trockenhefen mit Wasser unter Beigabe von Thymol einmal während 18 Stunden bei 31°, das andere Mal etwa 3 Monate lang bei Zimmertemperatur.

Je 3 ccm einer 7 % jegen Amygdalinlösung wurden in homöopathischen Gläschen mit 1 bis 1,2 ccm der Hefenauszüge versetzt, 5 Tage im Brutschrank bei 31 aufbewahrt und durch Filtrierpapier Schleicher und Schüll "Nr. 602 hart" filtriert. Einige Tropfen des Gemisches wurden mit etwa 5 ccm Fehlingscher Lösung im kochenden Wasserbad erhitzt. Bei allen vier Trockenhefen fand eine reichliche Reduktion zu Kupferoxydul statt.

Allerdings war hiermit noch nicht der zwingende Beweis geführt, daß das Amygdalin durch das Enzym Amygdalase zerlegt wurde, denn bei der Spaltung durch Emulsin werden ja zwei Moleküle Glucose aus dem Glucosid frei gemacht.

Die Entscheidung darüber, welches der beiden Enzyme in Wirksamkeit tritt, ist nur möglich, wenn auch die anderen Produkte, Blausäure und Mandelnitrilglucosid, sowie der Benzaldehyd berücksichtigt werden.

Erhält man nur Kupferreduktion beim Kochen mit Fehlingscher Lösung, wird weder Blausäure noch Benzaldehyd gefunden, dagegen Mandelnitrilglucosid nachgewiesen, so handelt es sich um das Enzym Amygdalase. Findet man dagegen Benzaldehyd und Blausäure, so hatte das Emulsin seine Wirkung geäußert.

354 A. Bau:

Arbeitet man mit Konservierungsmitteln, wie Thymol, so wird hierdurch der auftretende Geruch nach Benzaldehyd häufig verschleiert, zumal wenn man nur geringe Mengen Lösung benutzt.

Zwecks weiterer Prüfung wurden die Lösungen, die von der Digestion des Amygdalins mit den Auszügen der Trockenhefen herrührten, der Destillation nach der im vorigen Abschnitt (III, 1, d) erwähnten vereinfachten Methode unterworfen. Die Destillation gestaltete sich insofern mißlich, als die Lösungen zum Überschäumen neigten, doch konnte man in einigen Proben wenigstens einige Tropfen eines klaren Destillates erhalten, in welchem Blausäure nicht zugegen war.

Es wurden auch die Lösungen, die von der Digestion des Amygdalins mit den Trockenhefen selbst herrührten, im Scheidetrichter mit warmem Äthyläther ausgeschüttelt. Der Rückstand, der nach dem Verdampfen des Äthers hinterblieb, wurde dreimal aus Essigäther und einmal aus Chloroform umkrystallisiert. Bei der Schmelzpunktbestimmung sinterte er ein wenig bei 139° und war bei 147 bis 148° geschmolzen. Für Mandelnitrilglucosid gibt Emil Fischer den Schmelzpunkt 147 bis 148° an; wasserfreies Amygdalin schmilzt bei 200°; demzufolge war der von mir erhaltene Rückstand Mandelnitrilglucosid; dieses wurde noch dadurch identifiziert, daß beim Behandeln desselben mit Emulsin aus süßen Mandeln ein deutlicher Geruch nach Benzaldehyd auftrat.

Die Versuche ergaben, daß in den alten Trockenhefen sowohl Emulsin wie Amygdalase zugegen waren, sowie daß die Spaltung des Amygdalins auch durch die Hefenzelle selbst in zwei Phasen verläuft. Das Glucosid wird durch das Hefenemulsin nicht unmittelbar in 2 Moleküle d-Glucose, Benzaldehyd und Blausäure zerlegt, sondern es entsteht als Zwischenprodukt das Mandelnitrilglucosid.

f) Lipase. Ein Enzym, das Fett spaltet, wurde in der Hefe von O. Laxa aufgefunden¹). Die Hefenlipase besitzt gegenüber Butterfett, wie O. Laxa betont, nur eine schwach spaltende Kraft. Doch gaben J. H. Kastle und A. S. Loewenhart²) an, daß Buttersäureäthylester so leicht von Lipase hydratisiert wird, um als Mittel zum Nachweise dieses Enzymes zu dienen.

¹⁾ Siehe hierüber M. Delbrück, Wochenschr. f. Brauerei 19, 25, 1902.

²) Americ. Chem. Journ. 24, 491, 1900; nach Wochenschr. f. Brauerei 18, 78, 1901. (Die Originalabhandlung konnte ich mir nicht verschaffen.)

Zu meinen Versuchen verwandte ich den Äther butylicus conc. (Schering), der schwach sauer reagierte. Von diesem löste ich 50 ccm zu 2 l Wasser und verrührte hiervon je 100 ccm mit 1 g der Trockenhefen, sowie zum Vergleiche auch mit je 1 g frisch abgepreßter Ober- und Unterhefe. Von den in gleicher Weise hergestellten Proben wurde die Hälfte sofort im Kochschen Sterilisiercylinder zur Zerstörung der Enzyme erhitzt, um Vergleichsresultate zu erhalten.

Die sterilisierten, wie die nicht erhitzten, also enzymhaltigen Proben wurden 5 Tage bei 31° aufbewahrt. Nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur wurden je 50 ccm abfiltriert und mit n/4-Natronlauge bei Verwendung von Phenolphthalein als Indicator titriert.

Man erhielt folgende Zahlen.

Art der Hefe		n ⁿ / ₄ -Natronlauge nicht sterilisierte Lösung		
	ccm	cem		
Ohne Hefe	3,6	3,55		
U 1896	3,9	5,00		
U 1903	3,8	5,10		
U 1908	3,8	4,55		
O 1896	4,0	5,75		
Frische Hefe	_	5,8 bis 5,9		

Gegenüber dem ursprünglichen Säuregehalt der Lösung, der durch 3,6 ccm n/-Natronlauge ausgedrückt wird, fand man bei den mit Hefe sterilisierten Lösungen eine geringe Zunahme des Verbrauches an Natronlauge; ob dies davon herrührt, daß beim Digerieren der Hefe mehr saure Phosphate gelöst wurden, mag dahingestellt bleiben.

Wenn man die Zahlen für die zur Neutralisation verbrauchte Natronlauge zwischen den sterilisierten und den nicht erhitzten Proben vergleicht, so ergeben sich folgende Unterschiede:

Art der Hefe	Plus am Verbrauch der ⁿ / ₄ -Natronlauge ccm	Zersetzter Butter- säureäthylester g	In der angewandten Menge ungefähr %
U 1896	1,1	0,032	6,2
U 1903	1,3	0,038	7,6
U 1908	0,75	0,022	4,4
O 1896	1,75	0,051	10,2

Aus diesen Zahlen ersehen wir, daß die Hefenlipase auch in den alten Trockenhefen noch zugegen ist, allerdings ist ihre Wirksamkeit nur eine geringe.

g) Endotryptase. Zum Nachweis der Endotryptase war der Weg nicht gangbar, die Trockenhefen als solche zu verwenden¹).

Ich benutzte folgende Methode. Die Trockenhefen, und zum Vergleiche auch frisch abgepreßte Hefen wurden mit wenig Wasser und Thymol im Thermostaten bei 31° während 48 Stunden aufbewahrt. Von dem entstandenen Brei wurde auf eine im Reagensglas schräg erstarrte Gelatine — ich gebrauchte die in jedem Brauereilaboratorium vorhandene $10^{\circ}/_{\circ}$ ige Würzegelatine — so viel hinzugegeben, daß etwa die Hälfte des Zwischenraumes zwischen der freien Seite des Reagensglases und der schrägen Oberfläche der Gelatine gefüllt war. Der untere Stand der noch festen Gelatine wurde mit roter Farbe markiert. Die Gläschen wurden bei Zimmertemperatur, die in diesem Falle zwischen 15 und 17,5° schwankte, aufbewahrt.

Nach einer Beobachtungszeit von 4 bis 8 Tagen war die Gelatine zum Teil verflüssigt worden. Die Verflüssigungszone betrug, von dem roten Markierungsstrich nach unten gemessen:

Hefe	Nach 4 Tagen mm	Nach 8 Tagen mm
U 1896	7,0	11,0
U 1903	7,5	13,0
U 1908	5,8	11,0
O 1896	4,0	6.0
Frische Unterhefe	5,0	10,0
Frische Oberhefe	4,5	7,2

Nebenbei sei erwähnt, daß auch sämtliche Hefen mit etwas Wasser und Thymol im Kochschen Sterilisiercylinder zwecks Zerstörung der Enzyme erhitzt wurden. Der Hefenbrei wurde ebenfalls auf sterilisierte Gelatine gegeben, doch bewirkte er naturgemäß keine Verflüssigung der Gelatine.

Die Hefenendotryptase ist daher zu den widerstandsfähigen Enzymen zu rechnen.

¹⁾ Wochenschr. f. Brauerei 32, 159, 1915.

2. Enzyme, die in den Trockenhefen nicht mehr nachgewiesen werden konnten.

Die Trockenhefen wurden ferner auf die Anwesenheit solcher Enzyme geprüft, die außer den bereits erwähnten sonst noch in der Hefe vorkommen.

Bei dieser Besprechung interessieren uns vorwiegend die von mir angewandten Methoden, da es nicht ganz ausgeschlossen erscheint, daß bei der Benutzung anderer Verfahren noch dies oder jenes Enzym auch in den Trockenhefen aufgefunden werden könnte. Ein Beispiel hierfür bietet die Carboxylase, die einesteils bereits durch freie Brenztraubensäure, andernteils nur durch die gepufferte Säure oder schließlich nur mit Hilfe eines Salzes dieser Säure in den Hefen nachgewiesen werden kann je nach dem physiologischen Zustand, in dem sich die Hefen befinden.

- a) Zymase. Der Nachweis der Zymase ist ja in bekannter Weise durch die Alkoholgärung verschiedener Zuckerarten zu Meine alten Trockenhefen enthielten Zymase nicht mehr. Allerdings ist es möglich, dieses Enzym auch aus Preßsäften im trockenen Zustand zu gewinnen oder es in Form der Acetondauerhefe zu konservieren, doch erstrecken sich die hierüber angestellten Versuche meines Wissens nicht über eine längere Zeit als 12 Monate¹).
- b) Trehalase. Die Spaltung der Trehalase, eines Fehlingsche Lösung nicht reduzierenden Zuckers, läßt sich in einfacher Weise durch dieses Reagens ebenso wie beim Rohrzucker unter dem Einfluß der Invertinwirkung nachweisen. Es gelang Emil Fischer²), mit frisch getrockneter Frohberghefe diesen Zucker bis auf etwa 20% zu spalten. Wässerige Hefenauszüge wirkten nicht auf Trehalose ein.

Meine eigenen Versuche mit frisch abgepreßter Hefe, die in mannigfaltigster Weise modifiziert wurden⁸), führten zu der Schlußfolgerung, daß die Hefentrehalase ein recht empfindliches Enzym ist.

¹⁾ Lafar, Handbuch der Technischen Mykologie 4, 364, Zeile 29 bis 38.

⁸) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 28, II, 1432, 1895.

³⁾ Wochenschr. f. Brauerei 16, 305, 1899; 32, 143, 1915.

- a) Altere Versuche vom Jahre 1899.
- 1. Eine gepreßte untergärige Frohberghefe (Reinkultur) wurde auf unglasiertem Porzellan abgesaugt und war bei Zimmertemperatur pulverig trocken. Auf 25 ccm Trehaloselösung von 1,839 °/₀ Gehalt kamen 1 g Hefe und 0,25 g Toluol, also 1 °/₀ des Antisepticums; digeriert bei 30 °. Nach 39 Stunden schwache, nach 72 Stunden starke Reduktion gegenüber Fehlingscher Lösung.
- 2. Dieselbe Hefe wurde mit Glaspulver zerrieben und stellte eine salbenartige Masse dar. Versuchsanstellung und Resultat wie vorher.
- 3. Die gleiche Hefe, bei niedriger Temperatur getrocknet, dann im Freudenreich-Kölbchen bei 100° sterilisiert, nach dem Erkalten mit steriler Trehaloselösung übergossen und 7 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt, ergab keine Reduktion. Die ebenso behandelte Hefe enthielt in starker Wirksamkeit noch Invertase und Melibiase.
- 4. Reinzuchthefe (untergärige Frohberghefe), also keine absolute Reinkultur. Versuchsanstellung: 5 ccm Wasser, 0,2 g Trehalose, 0,5 g Hefe, 0,05 g Toluol, mithin $1^{0}/_{0}$ des Antisepticums. Reduktion nach 60 Stunden stark.
- 5. Eine andere Rasse der Reinzuchthefe ergab in 40 com Trehaloselösung von $1,25\,^{0}/_{0}$ bei dem Zusatz von 1 g Hefe und 0,8 g Toluol, also $2\,^{0}/_{0}$ des Antisepticums, selbst nach 14 Tagen keine Reduktion. Invertase war dagegen in der Lösung reichlich vorhanden.

β) Neuere Versuche vom Jahre 1914.

- Frisch abgepreßte Ober- und Unterhefen wurden 24 Stunden mit Trehaloselösung unter Beigabe von Thymol bei 31^o digeriert. Reduktion deutlich, aber nicht allzu stark.
- 2. Dieselben Hefen wurden mit einer $0.5^{\circ}/_{0}$ igen Lösung von saurem Fluorammonium, das in dieser Konzentration bei Zimmertemperatur nicht auf Trehalose einwirkt, verrührt. Als sich die nunmehr abgetötete Hefe nach $4^{3}/_{4}$ Stunden am Boden des Reagensglases abgelagert hatte, wurde die überstehende Flüssigkeit vorsichtig abgegossen und eine sterile kalte Trehaloselösung hinzugefügt. Nach der Aufbewahrung bei 31° während 24 Stunden trat eine deutliche Reduktion ein.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß frische Hefen zwar Trehalase enthalten, daß dieses Enzym aber bereits durch größere Gaben von Toluol $(2^{\,0}/_{0})$ oder durch vorsichtiges Austrocknen und Erhitzen auf $100^{\,0}$ zerstört wird.

In meinen vier alten Trockenhefen war Trehalase nicht vorhanden.

c) Katalase. Oskar Loew¹) bezeichnete mit diesem Namen ein Enzym, das bei der Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd (Perhydrol) auf gewisse organische Substanzen diese Verbindung gemäß der Formel $2H_2O_2 = 2H_2O + O_2$ zerlegt und somit freien Sauerstoff entbindet. Nach Oskar Loew sowie nach W. Henneberg²) kommt dieses Enzym auch in den Hefen vor.

Rührt man beispielsweise 1 g frisch abgepreßter Hefe vom Frohbergtypus mit 5 ccm Wasser an, gibt von der Mischung 1 ccm in den van Itersonschen Gärapparat und bringt dazu 1 ccm Wasserstoffsuperoxyd von $10^{0}/_{0}$, so entwickeln sich bei Zimmertemperatur innerhalb 15 Minuten bereits über 10 ccm Sauerstoff.

Frisch abgepreßte obergärige und untergärige Hefe, die auf unglasiertem Porzellan pulverig trocken abgesaugt war und einige Wochen im Laboratorium stand, gab bei dem Übergießen mit Wasserstoffsuperoxyd noch eine reichliche Gasentwicklung.

Meine vier alten Trockenhefen reagierten aber nicht mehr mit Wasserstoffsuperoxyd, so daß man die Katalase wohl als ein nicht allzu beständiges Enzym ansprechen muß.

d) Oxydase. In den Hefen fand J. Grüß⁸) eine Oxydase auf; er bezeichnet damit ein Enzym, das aus der Luft freien Sauerstoff aufnimmt, diesen selbst aber nicht bindet, sondern ihn auf einen anderen Körper überträgt und letzteren dadurch oxydiert.

Außer der Oxydase wies J. Grüß⁴) auch einen peroxydasisch wirkenden Körper in der Hefe mittels Ursol-d nach. Da ich mir diese Verbindung in den letzten beiden Jahren nicht verschaffen konnte, mußte ich darauf verzichten, meine Hefen mit Ursol-d zu prüfen.

¹⁾ Wochenschr. f. Brauerei 17, 308 u. 643, 1900; 18, 599, 1901.

³⁾ Zeitschr. f. Spiritusindustrie 27, 96, 1904.

³) Wochenschr. f. Brauerei 18, 310, 318, 335, 1901.

⁴⁾ Wochenschr. f. Brauerei 20, 431, 1903.

360 A. Bau:

Diejenige Peroxydase, die in Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd eine Emulsion von Guajacharz bläut und die im Malz z. B. in anscheinend größerer Menge vorhanden ist, kommt weder in frischen noch in getrockneten Hefen vor.

Die Hefenoxydase läßt sich auch in frischer Hefe nicht unter allen Umständen nachweisen, denn nach J. Grüß ist ihr Vorhandensein von dem physiologischen Zustand der Zelle abhängig, oder aber ihre Wirkung wird von einer gleichzeitig auftretenden Reduktase beeinflußt.

Zu meinen Versuchen verwandte ich Tetramethylparaphenylendiaminhydrochlorid (Kahlbaum). Hiervon wurden 12 mg in 25 ccm ausgekochtem destillierten Wasser gelöst. Diese stets frisch bereitete Lösung diente zur Darstellung des sog. "Tetrapapiers", während zur Bereitung des "Tetrasodapapiers" nach J. Grüß 12 ccm obiger Flüssigkeit mit 2 ccm bei 17,5° gesättigter Sodalösung vermischt wurden.

Zur Anwendung gelangten frisch abgepreßte Ober- und Unterhefe, ferner diese selben Hefen, nachdem sie auf unglasiertem Porzellan trocken abgesaugt waren und 20 Stunden der Luft ausgesetzt blieben — ich bezeichne die letzteren als gelagerte frische Hefen —, sowie meine vier Trockenhefen, die vor dem Beginn des Versuches 2 Stunden lang mit Wassereingeweicht wurden.

Bei meinen Reihenversuchen brachte ich, abweichend von der von J. Grüß gegebenen Vorschrift, die Hefe zunächst auf ein Stück Filtrierpapier, das in einer Petrischale lag, und tränkte dann erst das Papier mit der "Tetra"- oder "Tetrasoda"-Lösung. Der Grund für diese Veränderung ist darin zu suchen, daß ich bei meinen Serien eine Zersetzung der "Tetralösung" durch den Luftsauerstoff selbst zu verhindern bemüht war, denn läßt man "Tetra"- oder "Tetrasoda"-Lösungen längere Zeit an der Luft stehen, so tritt eine Verfärbung der Lösungen ein.

Die Ergebnisse lassen sich in der folgenden Tabelle ablesen.
Die Versuche mit meinen Trockenhefen wurden noch
weiter ausgedehnt, indessen erhielt ich selbst während der
Beobachtungszeit von 3 Stunden mit "Tetra"- und "Tetrasoda"Papier eine Verfärbung nicht.

Somit komme ich zu dem Schluß, daß die Hefenoxydase

Hefe	Tetrapapier	Tetrasodapapier
Frische Oberhefe	Schwache Violettfärbung.	Sofort dunkelviolette Färbung.
Frische Unterhefe	Schwache Violettfärbung.	Keine Färbung.
Gelagerte frische Oberhefe	Nur allmählich entstand eine bläuliche Randzone.	Erst nach 1/2 Stunde entstand eine blauviolette Randzone.
Gelagerte frische Unterhefe	Sofort zeigte sich eine stark dunkelviolettblaue Randzone, in ½ Stunde war das ganze Papier bläulich; die intensive Färbung schritt auch gegen die Mitte der Hefenmasse vor.	1/2 Stunde war die Hefe
U 1896	Keine Verfärbung.	Keine Verfärbung.
U 1903	Ebenso.	Ebenso.
U 1908	Ebenso.	Ebenso.
U 1896	Ebenso.	Ebenso.

ein empfindliches und leicht veränderliches Enzym ist, das in meinen Trockenhefen nicht vorhanden war.

e) Reduktase. Enzyme, die eine reduzierende Wirkung äußern oder Wasserstoff zu bestimmten Körpern addieren, sind ebenfalls in der Hefe aufgefunden worden. Das erste derselben war das Philothion, das von Rey Pailhade 1) so genannt Außerdem werden noch eine Hydrogenase und eine Reduktase als in der Hefenzelle vorhanden angegeben, - wie weit diese Enzyme miteinander identisch oder voneinander verschieden sind, soll nicht weiter untersucht werden, - ich fasse dieselben hier unter der Bezeichnung Reduktase zusammen.

Verreibt man frisch abgepreßte Ober- und Unterhefe innig mit Schwefelblumen, füllt das Gemisch in homöopathische Gläschen, die verkorkt und 24 Stunden lang im Brutofen bei 310 aufbewahrt werden, so riecht man bereits beim Lüften des Korkes den entstandenen Schwefelwasserstoff, den man außerdem an der Schwarzfärbung des mit Bleiessig getränkten und über die Öffnung des Gläschens gelegten Filtrierpapiers erkennt.

Während sich so, wie es ja bekannt ist, in frischen Hefen das Philothion nachweisen läßt, ergaben meine vier Trocken-

¹⁾ Compt. rend. 106, 1682, 1888; vgl. auch Lafar, Handb. d. Techn. Mykologie 4, 477 ff.

362 A. Bau:

hefen, die mit Schwefelblumen und wenig Wasser zu einem dicken Brei angerührt waren, bei der gleichen Behandlung eine Einwirkung auf den elementaren Schwefel nicht; es entstand keine Spur Schwefelwasserstoff.

Nach W. Palladin 1) reduziert die Hefe Natriumselenit zu freiem Selen. Da letzteres rot gefärbt ist, läßt sich die Abspaltung dieses Elementes bereits durch den Augenschein erkennen.

Bei meinen Versuchen mischte ich frisch abgepreßte Oberund Unterhefe mit einer einprozentigen Lösung von Natriumselenit. Innerhalb dreier Stunden zeigte sich bei der Aufbewahrung im Laboratorium bei Zimmertemperatur bereits eine schwache Rosafärbung, die im Verlaufe von 24 Stunden die ganze abgesetzte Hefe fleischrot färbte. Da die Hefe selbst gelblich getönt ist, erscheint die Farbe des ausgeschiedenen Selens nicht rein rot, weil dieses mit der Hefe vermischt ist.

Meine vier Trockenhefen wirkten nicht auf das Natriumselenit ein, die Hefenreduktase gehört somit zu den empfindlichen Enzymen.

f) Hefenlab. Nach Rudolf Rapp³) enthält die Hefe ein Labenzym, das sich aber erst nach einer besonderen Behandlung der Hefe nachweisen läßt. Das Labenzym ist demnach wohl nicht als solches in der Hefe vorhanden, sondern es ruht darin als Enzymogen.

Zur Bereitung der Hefenauszüge kamen je 20 g der Hefe mit 30 ccm Wasser und 20 ccm Äthyläther in Lintnersche Druckflaschen, in denen das Gemisch zunächst 16 Stunden lang bei Zimmertemperatur stehen blieb. Hierauf erwärmte man die Druckflaschen während 70 Minuten auf 55° im Wasserbad. Nach dem Abkühlen wurden die Mischungen filtriert, doch erhielt man nur wenige Kubikzentimeter eines blanken Filtrates.

Bei einer Versuchsreihe kamen auf je 1 ccm Filtrat 8 ccm ungekochte Milch, bei der zweiten Serie wurde der Hefenauszug mit gleichen Volumteilen der Milch versetzt.

Die Proben wurden ins Wasserbad gestellt, das auf 56 bis 58° gehalten wurde. Nach 45 Minuten zeigte sich eine feinflockige Ausscheidung aus der Milch bei frisch abgepreßter Hefe,

¹⁾ Siehe J. Grüß, Wochenschr. f. Brauerei 25, 842, 1908.

^{*)} Wochenschr. f. Brauerei 19, 738, 1902.

Hefencarboxylase in Trockenhefen im Vergl. zu and. Hefenenzymen. 363

während bei der Verwendung der Trockenhefen eine Gerinnung der Milch auch nach 2 Stunden nicht eintrat.

Demzufolge enthalten meine Trockenhefen ein Labenzym oder ein dieses Enzym erzeugendes Enzymogen nicht mehr.

IV. Untersuchungen über die im Bier vorhandenen Enzyme.

Zur Ergänzung dieser Enzymstudien wurde auch ein helles, in Norddeutschland gebrautes, gut abgelagertes, untergäriges Bier auf seinen Gehalt an Enzymen geprüft: Ich berichtete bereits hierüber a. a. O. 1).

a) Invertase. Dieses Enzym ist in jedem Bier vorhanden, wie ich bereits vor 23 Jahren nachwies²). Eine Bestätigung wurde hierfür von Donath³) gebracht, und ich gründete auf das Vorhandensein der Invertase in jedem Bier ein Verfahren, wie sich mittels chemischer Untersuchung feststellen läßt, ob ein Bier pasteurisiert ist⁴).

Als einfachstes Verfahren des Nachweises der Invertase erscheint folgendes: Gleiche Mengen Bier, das eine Mal frisch, das andere Mal zur Zerstörung des Enzyms aufgekocht, werden mit demselben Volumen einer $20^{\circ}/_{\circ}$ igen Rohrzuckerlösung und wenig Thymol oder Toluol versetzt und 24 Stunden lang im Thermostaten aufbewahrt. Von dem Gemisch kocht man je 1 ccm mit 5 ccm Fehlingscher Lösung 2 Minuten lang oder erhitzt die Flüssigkeit während derselben Zeit im kochenden Wasserbad. Bei der enzymhaltigen Probe färbt sich die Lösung rot und setzt beim Stehen einen starken Niederschlag von Kupferoxydul ab, über dem die Flüssigkeit intensiv gelb gefärbt ist, während letztere bei dem vorher gekochten Bier dunkelblau bleibt und nur einen geringen roten Absatz liefert, der durch die im Bier vorhandene Maltase und zumal von den Maltodextrinen aus der Fehlingschen Lösung abgeschieden wird.

Auch Raffinose wird ebenso wie der Rohrzucker vom Bier hydratisiert.

b) Maltase. Es wurden bei Zimmertemperatur 4,2 g Mal-

¹⁾ Wochenschr. f. Brauerei 32, 189, 1915.

^{*)} Chem.-Zeitg. 16, 143, 1892, und Woohenschr. f. Brauerei 9, 158 u. 193, 1892.

^{*)} Chem.-Zeitg. 16, 459, 1892.

⁴⁾ Wochenschr. f. Brauerei 19, 44, 1902.

tose in 50 ccm Bier gelöst, je 20 ccm der Lösung in 100-ccm-Kölbehen abpipettiert und die eine Probe aufgekocht. Beide Gefäße erhielten noch ein wenig Thymol und blieben im Brutschrank bei 31° 5 Tage lang stehen. Nach dem Abkühlen wurden sie bis zur Marke mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Zur Reduktion mit Fehlingscher Lösung gelangten 5 ccm.

Es wurde gefunden bei der		
ungekochten Probe	gekochten Probe	
0,1024 g Cu	0,1034 g Cu	
0,1024 g Cu 0,1056 n n	0,1034 g Cu 0,1046 n n	
Im Mittel: 0,1040 g Cu	0,1040 n Cu	

Aus der Maltose hätte sich unter der Einwirkung der Maltase d-Glucose bilden müssen, welch letztere gegenüber Fehlingscher Lösung ein erheblich größeres Reduktionsvermögen besitzt als die Maltose.

Die Gleichheit der erhaltenen Kupferwerte beweist die Abwesenheit der Maltase im Bier.

c) Melibiase. In 50-ccm-Kölbchen kamen je 10 ccm Bier, 0,55 g krystallisierte Melibiose und ein Körnchen Thymol. Beide Proben blieben, nachdem die eine aufgekocht war, bei 31° 5 Tage stehen und wurden nach dem Abkühlen bis zur Marke mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Es wurden von dem Gemisch 10 ccm mit Fehlingscher Lösung reduziert.

Man erhielt bei der			
ungekochten Probe	gekochten Probe		
0,1610 g Cu	0,1254 g Cu 0,1248 n n		
0,1595 n n			
Im Mittel: 0,1602 g Cu	0,1251 g Cu		

Der Unterschied betrug 0,0351 g Cu.

Die Melibiose wird bei der Hydratisierung in d-Glucose und d-Galactose zerlegt, welche Zuckerarten gegenüber Fehlingscher Lösung ein größeres Reduktionsvermögen besitzen als die Melibiose ¹). Da bei der ungekochten Bierprobe eine erheblich größere Menge von reduziertem Kupfer erhalten wurde als in der gekochten, war somit der Beweis geliefert, daß unter-

¹⁾ Edm. O. v. Lippmann, Die Chemie der Zuckerarten, 3. Aufl., S. 583 ff., 762, 1596. Braunschweig 1904.

Hefencarboxylase in Trockenhefen im Vergl. zu and. Hefenenzymen. 365 gäriges Bier Melibiase enthält, im obergärigen Bier kann sie

gäriges Bier Melibiase enthält, im obergärigen Bier kann sie nicht vorhanden sein.

- d) Trehalase. Besondere Versuche über das Vorkommen dieses Enzyms im Bier habe ich nicht angestellt. Nach den schon früher mitgeteilten Beobachtungen (siehe Abschnitt III, 2, b) gehört die Trehalase zu einem der empfindlichsten Körper; auch Emil Fischer¹) gelang es nicht, in wäßrigen Auszügen aus der Hefe dieses Enzym nachzuweisen. Wir dürfen daher wohl mit Sicherheit annehmen, daß Trehalase im Bier nicht vorhanden ist.
- e) Emulsin. Nach der Aufbewahrung von 20 ccm Bier, denen 2 g Amygdalin zugefügt waren, im Brutschrank bei 31° während 5 Tagen, konnte man bei der nachfolgenden Destillation keine Spur Blausäure gewinnen. Emulsin ist also im Bier nicht vorhanden.
- f) Amygdalase. In 50 ccm Bier wurden 1,45 g Amygdalin (Schering) gelöst. Hiervon kamen je 20 ccm auf 100-ccm-Kölbchen; die eine Probe wurde sterilisiert. Beide Proben standen 4 Tage lang im Brutschrank bei 31° und wurden nach dem Abkühlen auf 100 ccm aufgefüllt, von welcher Menge 25 ccm zur Reduktion mit Fehlingscher Lösung verwandt wurden.

Es wurden erhalten			
bei ungekochtem Bier	bei gekochtem Bier		
0,0840 g Cu — *)	0,0755 g Cu 0,0755 g n		

Ferner gelangte Amygdalin (Kahlbaum) zur Anwendung. Letzteres wurde noch besonders auf die Reinheit und zumal auf die Gegenwart von Rohrzucker geprüft. Es ergab sich, daß 0,5 g Amygdalin, das mit 25 ccm einer 50/0 igen Essigsäure 30 Minuten lang im kochenden Wasserbade erhitzt und sodann mit Fehlingscher Lösung reduziert wurde, nur 0,0004 g Cu lieferte, mithin eine zu vernachlässigende Menge.

Von dem Amygdalin (Kahlbaum) kamen in je 20 ccm Bier 2 g dieses Glucosids. Unter Beigabe von Thymol wurde die

¹⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 28, II, 1432, 1895.

^{*)} Der zweite Versuch verunglückte.

eine Probe gekocht, die andere blieb, wie die erstere, 6 Tage im Thermostaten bei 31° stehen. Man erhielt nach dem Abkühlen und dem Auffüllen auf 100 ccm für die zur Reduktion verwandten 25 ccm folgende Zahlen.

Bei ungekochtem Bier	Bei gekochtem Bier
0,1170 g Cu 0,1160 g Cu	0,0724 g Cu 0,0724 g Cu
m Mittel: 0,1165 g Cu	0,0724 g Cu

Der Unterschied in den gewonnenen Zahlen des reduzierten Kupfers beweist bereits die Gegenwart der Amygdalase im untergärigen Bier. Versuchen wir eine Berechnung, so waren bei dem ersten Versuche $13,03^{\circ}/_{\circ}$ des Amygdalins gespalten, bei dem zweiten Versuche $12,28^{\circ}/_{\circ}$.

g) Carboxylase. Eine Lösung von brenztraubensaurem Natrium, die etwa 1°/₀ Brenztraubensäure enthielt und gegen Lackmus schwach alkalisch reagierte, wurde einmal zur Hälfte, ein andermal im Verhältnis von 1 Volumteil Lösung mit 2 Maßteilen Bier vermischt. Die Flüssigkeiten standen während 5 Tagen im Brutschrank bei 31°; ihre Untersuchung zeigte eine schwach saure Reaktion bei der Tüpfelprobe auf neutralem Lackmuspapier. Wäre Carboxylase zugegen gewesen, so hätte die Reaktion in alkalisch umschlagen müssen.

Ferner wurde ein helles, untergäriges Bier sorgfältig entkohlensäuert. Das Bier wurde mit gleichen Mengen der früher erwähnten Pufferungsgemische (I, 1) versetzt; von dieser Lösung kamen je 2 ccm in die van Itersonschen Gärapparate, die 72 Stunden lang bei 31° stehen blieben. In keinem Falle zeigte sich auch nur ein Bläschen Kohlensäure; auch nach diesen Proben war Carboxylase im Bier nicht vorhanden.

h) Lipase. Je 100 ccm gekochtes und ungekochtes Bier wurden mit 2,5 ccm Äther butylicus conc. (Schering), der schwach sauer reagierte, vermischt, 5 Tage im Brutschrank bei 31° aufbewahrt und unter Verwendung von ⁿ/₄-Natronlauge mittels der Tüpfelprobe auf neutralem Lackmuspapier titriert.

Bei der gekochten Probe wurden 13,2 ccm, bei der ungekochten 13,4 ccm verbraucht. Die Gleichheit der Zahlen beweist, daß Lipase im Bier nicht vorkommt.

- i) Endotryptase. Reagensgläser, die mit 10% jeer Gelatine beschickt und sterilisiert waren, wurden mit einigen Kubikzentimetern Bier und mit einem Körnehen Thymol versehen. Auch nach 12 tägiger Beobachtung bei Zimmertemperatur fand irgendeine Änderung der Oberfläche der Gelatine nicht statt. Endotryptase ist demnach im Bier nicht enthalten.
- k) Katalase. Es wurden 2 ccm gut entkohlensäuertes Bier, darauf 1 ccm Wasserstoffsuperoxyd von $10^0/_0$ in den van Itersonschen Apparat gegeben und 24 Stunden bei 31° aufbewahrt. Da sich keine Spur Gas entwickelte, war der Schluß zu ziehen, daß Katalase im Bier nicht gegenwärtig ist.
- l) Oxydase. Es wurde das Bier nur gegenüber seinem Verhalten von Tetramethylparaphenylendiaminhydrochlorid (Kahlbaum) geprüft. Von dieser Verbindung wurden 5 mg in 10 ccm Wasser gelöst; ein Teil dieser Lösung, und zwar 5 ccm, wurde zur Bereitung der "Tetrasodalösung nach Grüß" mit 1 ccm bei 16° gesättigter Sodalösung versetzt. Mit beiden Lösungen wurde Filtrierpapier getränkt und letzteres sofort mit Bier begossen.

Das "Tetrapapier" zeigte sowohl mit wie ohne Bierzusatz nach einer halben Stunde schwache Violettfärbung. Ein Unterschied in der Farbentönung wurde nicht bemerkt. Das "Tetrasodapapier" verfärbte sich nicht. Ein Vorkommen der Oxydase im Bier muß ich daher verneinen.

m) Reduktase. Je 10 ccm Bier wurden mit 0,1 g Natriumselenit versetzt; nach der Aufbewahrung der Mischung im Thermostaten bei 31° während 24 Stunden zeigte sich keine Ausscheidung von elementarem Selen. Auch bei dem Aufbewahren des Bieres in geschlossenen Gefäßen unter Beigabe von Schwefelblumen entstand keine Spur Schwefelwasserstoff.

Im normalen Bier ist somit eine Reduktase nicht vorhanden.

n) Hefenlab. Dieses Enzym konnte im Bier nicht aufgefunden werden, auch wenn man 20 ccm Bier mit der gleichen Menge ungekochter Milch 2 Stunden lang in dem auf 58° erhitzten Wasserbad bei dieser Temperatur hielt.

Im Bier nachgewiesen wurden somit nur die Invertase, Melibiase und Amygdalase, während Carboxylase, Emulsin, Maltase, Trehalase, Endotryptase, Lipase, Katalase, eine Oxyd368 A. Bau:

ase und Reduktase, sowie das Hefenlab nicht aufgefunden wurden.

Betreffs der Carboxylase hatte ich früher (siehe Abschnitt I) hervorgehoben, daß dieses so resistente Enzym nicht aus der lebenden Hefenzelle diffundiert. Einen Beweis hierfür möchte ich auch in diesen Bieruntersuchungen erblicken.

Die gleiche Annahme ist zutreffend für die Endotryptase, sie wird ferner Geltung haben für die Maltase und das Hefenemulsin.

V. Zusammenfassung.

Stellen wir eine Tabelle über die geprüften Hefenenzyme auf, so ergibt sich folgendes.

		sche efen	Getrocknete Helen			Hefen	Bier
Art der Enzyme	Oberhefe	Unterhefe	O 1896, im März 1896 bei Zimmertemperatur getrocknet	U 1896, im Mārz 1896 bei Zimmertemperatur getrocknet	U 1903, am 25. Juni 1903 bei 25º getrocknet	U 1908, am 25. Juni 1903 bei 25° getrocknet, dann am 2. Okt. 1908 allmäh- lich auf 105° erwärmt	Untergäriges, helles Bier
Zymase	+	+	0	0	0	0	0
Reagens: Rohrzucker	++	++	++	++	++	++	++
Reagens: freie Brenztrauben- säure brenztraubensaures	+	+	0	0	0	0	1)
Natrium gepufferte Brenz-	+	+	+	+	+	+	0
traubensäure Maltase Melibiase Trehalase Emulsin Amygdalase Lipase Endotryptase Katalase Oxydase Reduktase:	+ + 0 + + + + + + + + + + + + + + + + +	+++++++++	0 + 0 0 + + + 0 0	+++0+++00	+ + 0 + + + 0 0	+++0+++00	00+00+0000
Reagens: freier Schwefel	++++	+ + + +	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0

¹⁾ Nicht geprüft.

Wie man aus der Tabelle ersieht, gehören zu den widerstandsfähigsten Enzymen, die in z. T. fast 20 Jahre alten Trockenhefen noch vorhanden sind, die Invertase, Carboxylase, Maltase, Melibiase (diese selbstverständlich nur bei untergärigen Hefen), das Emulsin, die Amygdalase, Lipase und Endotryptase.

Zu den empfindlichsten Enzymen scheint die Trehalase zu gehören, leicht veränderlich ist auch die Oxydase; gegen ein lange Zeit anhaltendes Austrocknen sind die Zymase, Katalase, Reduktase und das Hefenlab nicht widerstandsfähig.

Wenn auch quantitative Bestimmungen des Enzymgehalts nicht vorliegen, vermag man doch mit einiger Sicherheit zu sagen, daß in frischen Hefen Zymase, Invertase, Carboxylase, Maltase, Melibiase (diese nur bei Unterhefen) und Katalase reichlich vorhanden sind. Es werden Endotryptase, Oxydase und Reduktase vielleicht an die zweite Stelle zu setzen sein, während Trehalase, Emulsin, Amygdalase, Lipase und Hefenlab nur in geringer Menge in unseren deutschen Betriebshefen vorkommen.

Über das Fibrin und seine Beziehung zu einigen Problemen der Biologie und Kolloidchemie.

(Mit besonderer Berücksichtigung der Blutgerinnungsfrage.)

Von

R. Hekma.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Groningen.)

(Eingegangen am 14. Dezember 1915.)

VI.

Über den physikalischen Fibrinausscheidungs- bzw. Gelbildungsmodus in natürlichen und künstlichen Gerinnungsflüssigkeiten.

Bei meinen früheren Untersuchungen¹) hatte sich ergeben, daß das Gel Fibrin reversibel ist. Allerdings nicht in dem Sinne, daß dieses Gel von Wasser allein wieder in den Solzustand zurückversetzt werden kann, sondern erst mit Hilfe einer Spur Alkali oder Säure.

Ich habe für die mittels Alkali bzw. Säuren hergestellten Fibrinsole die einfachen und ohne weiteres verständlichen Namen "Fibrinalkalihydrosol" und "Fibrinsäurehydrosol" verwendet. Und zwar einesteils zur Unterscheidung dieser, in gewissen Hinsichten ungleiche Eigenschaften aufweisenden Sole voneinander und andernteils zur Unterscheidung von dem "Fibrinhydrosol", d. h. von einer Suspension von festen Fibrinteilchen in Wasser.

In den künstlichen Fibrinalkali- und Säurehydrosolen konnte unter geeigneten Umständen aufs neue (reversibel) Gelbildung erzeugt werden. Und zwar was die Fibrinalkalihydrosole betrifft, von allen denjenigen Faktoren, die im flüssig erhaltenen Blutplasma und Transsudaten unter geeigneten Umständen

¹⁾ Diese Zeitschr. 62, 161; 63, 158 u. 204; 64, 86; 65, 311, 1914.

Gelbildung herbeizuführen imstande sind, das heißt von Blutserum, von dem Schmidtschen Reagens, starken Neutralsalzlösungen (NaF, NaCl), verdünnten (und gewissen starken) Säuren und sauren Salzlösungen; CaCl₂-Lösungen usw. — Meine diesbezüglichen Untersuchungen leiteten mich zu dem Schluß, daß der Eiweißkörper Fibrin im Blute und in den Körperflüssigkeiten im präexistierenden und zwar im Alkalihydrosolzustande, bzw. in der Form einer Alkaliadsorptionsverbindung, "gelöst" enthalten sein muß. In der Gerinnungsliteratur liegen übrigens manche Beobachtung und Ausführung vor, die sich ebenfalls in diesem Sinne deuten lassen, wie ich an einer anderen Stelle¹) auseinanderzusetzen mich bemüht habe.

Wo nun der Hauptschlüssel zu dem Rätsel der Gerinnungsfrage vorlag, da müßte, wie mir schien, diese Frage nunmehr einer endgültigen Lösung zugänglich sein. Angesichts des Umstandes, daß in natürlichen und künstlichen Gerinnungsflüssigkeiten, bzw. Fibrinalkalihydrosolen, auch von gewissen Eiweißreagenzien Gelbildung zu erzeugen ist, lag die Annahme nahe, daß der Fibringerinnung im Prinzip ein Vorgang zugrunde liegen könnte, den man bei anderen Eiweißkörpern als kolloidalen Ausfällungs- bzw. Ausflockungsprozeß zu benennen pflegt. Zutreffendenfalls wäre jedoch damit die Frage nach dem tieferen Wesen dieses Prozesses keineswegs gelöst. Andererseits müßte zu gleicher Zeit mit der Frage gerechnet werden, ob der Fibringerinnung schließlich möglicherweise ein Krystallisationsprozeß zugrunde liegen könnte. Wenn auch das von physiologisch-chemischer Seite in der Literatur niedergelegte Beobachtungsmaterial, sowie eine Anzahl eigener Beobachtungen sich dieser Möglichkeit zu widersetzen schienen, so mußte doch zu gleicher Zeit erwogen werden, daß namentlich von morphologischer Seite Wahrnehmungen in der Literatur vorliegen, die den Gedanken an einen Krystallisationsprozeß haben aufkommen lassen. Wie in meinen soeben erwähnten historisch-kritischen Aufsätzen näher erörtert worden ist, ist dieser Gedanke schon bei Virchow²) zu finden, wäh-

¹⁾ Historisch-kritische Analysen des Blutgerinnungsproblems. Intern. Zeitschr. f. physikal.-chem. Biologie 2, 279, 299, 352, 1915.

⁸) Gesammelte Abhandlungen 1856. II. Über den Faserstoff.

rend von Schimmelbusch¹) die äußerst wichtige Entdeckung gemacht worden ist, daß das Fibrin bei seiner Ausscheidung in der Form von krystallähnlichen Nädelchen erscheinen kann. Letzterer Autor hat aus seinen mikroskopischen Wahrnehmungen den allerdings kühnen Schluß gezogen, daß es sich bei der Fibringerinnung ohne weiteres um einen Krystallisationsprozeß handeln sollte, und mehrere Autoren, unlängst wieder Stübel²) haben es ihm nachgesagt. Ich werde darauf verziehten, auf die betreffende äußerst interessante Literatur hier tiefer einzugehen, es sei gestattet, auf Näheres diesen Gegenstand betreffend auf die an anderer Stelle³) gemachten Ausführungen zu verweisen.

Inzwischen war die Tatsache, daß das Fibrin in der Form von krystallähnlichen Nädelchen zur Ausscheidung gelangen kann, an sich gewiß merkwürdig genug, um das besondere Interesse auf sich zu lenken. Das wurde noch in einem erhöhten Maße der Fall, als ich im Laufe meiner früheren Untersuchungen öfters die Erfahrung gemacht hatte, daß auch bei der Gelbildung in Gerinnungsflüssigkeiten unter dem Einfluß von gewissen Reagenzien, sowie bei der anscheinend spontanen Gelbildung im Fluoridplasma dergleichen Nädelchen auftraten. Namentlich in der zuletzt genannten Beobachtung könnte ja, andere Umstände beiseite gelassen, leicht ein triftiges Argument für die Krystallisationsnatur des Gerinnungsprozesses erblickt werden.

Nun kam zu diesen Tatsachen noch etwas hinzu. Von der bis jetzt noch vorherrschenden Lehre aus, nach der das Fibrin bei der "Gerinnung" erst aus einem anderen Eiweißkörper (dem von Virchow postulierten "Fibrinogen") entstehen sollte, unter Beteiligung eines vermeintlichen "Fibrinferments", schien die Krystallisationstheorie ganz unverständlich. Nachdem sich jedoch herausgestellt hatte, daß der Eiweißkörper Fibrin als solcher in präexistierendem, "gelöstem" bzw. Alkalihydrosolzustande im Blute und den Körperflüssigkeiten enthalten sein muß, daß somit das "Fibrinogen" eine Alkaliadsorptionsverbindung des Fibrins darstellt, da er-

¹⁾ Virchows Archiv 101, 201, 1885.

²) Arch. f. d. ges. Physiol. 156, 361, 1914.

⁸) Intern. Zeitschr. f. physik.-chem. Biologie, l. c.

schien die Krystallisationstheorie in einem ganz anderen Licht und war nicht ohne weiteres beiseite zu stellen. — Aus alledem ergab sich zunächst die Aufgabe, die bei der Gelbildung in Gerinnungsflüssigkeiten vorliegenden morphologischen bzw. physikalischen Verhältnisse durch eine systematische mikro- und ultramikroskopische Untersuchung weiter zu klären zu versuchen. Dabei dürfte man sich naturgemäß nicht damit begnügen, die Angaben anderer Autoren, die sich fast ausnahmslos auf die Studien der Fibrinausscheidungsvorgänge im Bluts- bzw. Plasmatropfen beschränkt haben, nachzuprüfen, sondern mußten zu gleicher Zeit die betreffenden Vorgänge bei der anscheinend spontanen Gelbildung im Fluoridplasma und namentlich die bei der unter dem Einfluß von Reagenzien in künstlichen und natürlichen Gerinnungsflüssigkeiten auftretenden Gelbildung eingehend verfolgt werden.

Bemerkt sei schließlich noch, daß die vorzuführenden Versuche sämtlich bei Zimmertemperatur, und daß die Dunkelfelduntersuchungen mit dem Paraboloidkondensor (von der Firma Zeiß) angestellt worden sind.

I. Über die physikalischen bzw. histologischen Vorgänge bei der Fibrinausscheidung und Gelbildung in einem nach Bürker flüssig erhaltenen Plasma- bzw. Blutstropfen.

Bekanntlich verdanken wir Bürker¹) eine einfache und sehr zweckmäßige Methode, um den Fibringerinnungsvorgang an einem einzigen Bluts- bzw. Plasmatropfen studieren zu können. Läßt man nämlich einen Blutstropfen, z. B. aus der Fingerkuppe, auf eine geglättete Paraffinoberfläche tropfen, indem man dann sofort das Ganze in eine feuchte Kammer stellt, so bleibt der Tropfen lange genug flüssig, um die spezifisch schwereren Erythro- und Leukocyten sich absetzen zu lassen, so daß die Kuppe des Tropfens fast frei von diesen Formelementen erscheint und demnach nur aus Plasma mit zahlreichen Blutplättchen besteht. Entnimmt man nun der Tropfenkuppe nach einiger Zeit mit einem Deckglase ein kleines Tröpfehen und schließt dieses zwischen dem Deck- und einem Objektglas ein, so treten in einem solchen Präparat

¹⁾ Arch. f. d. ges. Physiol. 102, 36, 1904.

schon bald mikroskopisch wahrnehmbare Gerinnungserscheinungen ein. Es handelt sich bei diesem Verfahren also um ein zeitweises Flüssigerhalten des Blutes bzw. Plasmas durch rein physikalische Maßnahmen — glatte Oberfläche und Schützung vor Verdunstung — ohne Zusatz von jeder gerinnungswidrigen Substanz. Das Blut befindet sich gewissermaßen unter denselben Bedingungen, wie es sich in einem unterbundenen Blutgefäß mit unlädierter Gefäßwand vorfindet.

Mit Hilfe dieser Methode sind von Bürker selber eine Reihe von Untersuchungen über die Gerinnung angestellt worden, und auch Stübel hat bei seinen vorerwähnten ultramikroskopischen Untersuchungen über die Gerinnung (allerdings wie Bürker in Zusammenhang mit der Frage nach der Beteiligung der Blutplättchen bei diesem Prozeß) vorwiegend dieses Verfahren verwendet¹). Und zwar mit dem Erfolg, daß während Bürker die Bildung von richtigen Fädchen in den Vordergrund gestellt hat, von Stübel nadelförmige Elemente, die er als Krystalle zu deuten geneigt war, beschrieben und abgebildet worden sind. Meiner Erfahrung nach kann man nach dem Bürkerschen Prinzip arbeitend sowohl krystallähnliche Nädelchen wie richtige Fädchen zu Gesicht bekommen, je nachdem man die Fibrinausscheidung unter etwas abgeänderten Bedingungen vor sich gehen läßt und abhängig von dem Stadium, in dem man der Kuppe den Tropfen entnimmt bzw. von dem Stadium, in dem man die Präparate untersucht. Überläßt man den Blutstropfen in der feuchten Kammer lange genug sich selbst, so gelangen fast ausschließlich feine richtige Fädchen zur Beobachtung, und schließlich lassen sich sogar keine Präparate von dem Kuppenteil mehr anfertigen, indem sich in dem Kuppenteil des Tropfens ein aus verfilzten Fädchen und Fäserchen zusammengesetztes Häutchen gebildet hat. Das eine und das andere möge aus den folgenden Versuchen näher hervorgehen.

Erste Versuchsanordnung. Es wird die Kuppe eines auf Paraffin aufgefangenen Blutstropfens nach kurzem Verweilen in der feuchten Kammer mit einem Deckglas ganz

¹) Das von Schimmelbusch befolgte Verfahren läuft gewissermaßen praktisch auf dasselbe hinaus.

oberflächlich berührt, so daß ein sehr kleines Plasmatröpfchen am Glase hängen bleibt. Es wird dann einem Objektträger untergelegt und das Deckglas, z. B. mit einer Pinzette, etwas angedrückt. Bei diesem Verfahren hat man naturgemäß mit einer außerordentlich dünnen Plasmaschicht zu tun. Bei der sofortigen ultramikroskopischen Beobachtung fallen zunächst für gewöhnlich (in anderen Fällen erscheinen sie erst nach einiger Zeit) eine Anzahl äußerst feine, an beiden Enden zugespitzte, scharf konturierte, nadelförmige Elemente in die Augen. Es sehen diese feinen Nädelchen Krystallen wirklich sehr ähnlich, so daß man mit Schimmelbusch, Stübel und anderen Autoren leicht zu der Annahme geneigt sein könnte, mit wirklichen Krystallen zu tun zu haben, wenn man die Formähnlichkeit als maßgebend für die Krystallnatur eines nadelförmigen Gebildes betrachten dürfte. Die Nädelchen befinden sich der Hauptsache nach in Ruhe, die meisten sind offenbar am Deck- und Objektglas angeklebt. Bei der Einstellung auf die dünne Flüssigkeitsschicht sieht man außerdem sich in Bewegung befindende Nädelchen, die übrigens ebenfalls bald seßhaft werden. Die Zahl der Nädelchen vermehrt sich zusehends, und nach etwa 10 bis 20 Minuten ist alles nahezu in Ruhe, indem man nunmehr auch das Vorhandensein von etwas größeren Nädelchen feststellen kann. Elemente, die man als fädchenförmige deuten könnte, werden ganz oder fast ganz vermißt. — Die Nädelchen liegen dann in allerhand Weisen durcheinander unter Bildung von beliebig geformten Figuren: y-, pinsel-, stern-, rosettenförmige usw., indem außerdem außerordentlich feinmaschige Nadelnetze vorhanden sind. Das ist der Haupteindruck. Nachdem man eine gewisse Übung in dergleichen Untersuchungen bekommen hat, sieht man mehr in den Präparaten. Es ergibt sich dann, daß sofort nach Anfang der Besichtigung, bzw. eventuell nach Anfang der Fibrinausscheidung, noch bedeutend feinere längliche Elemente wie die eigentlichen krystallähnlichen Nädelchen¹) wahrzunehmen sind. Es sind dies lichtschwache, beiderseits zugespitzte Säulchen²), die zwar ebenfalls den Gedanken an Nädelchen er-

i) Die runden punktförmigen Körperchen sowie die Blutplättchen mögen hier vorderhand außer Betracht bleiben.

^{*)} Ich brauche wohl kaum hervorzuheben, daß hier von Verwechse-

wecken, denen jedoch das Krystallähnliche, wohl wegen ihrer geringeren Lichtstärke, abgeht. Die feinsten dieser Elemente könnte man "längliche Punkte" nennen und zwischen diesen und den wirklich krystallähnlichen Nädelchen finden sich allerhand Übergänge. Daß man anfangs diese Elemente leicht übersieht, mag wohl in dem Umstande seine Ursache finden, daß das Auge von den lichtstärkeren (krystallähnlichen) Nädelchen ganz gefesselt wird. Unter Umständen beobachtet man auch schon die Andeutung einer Aneinanderreihung der nadelförmigen Elemente; hierbei werde ich jedoch nicht verweilen, weil dieser Vorgang weiter unten beschrieben werden wird.

Zweite Versuchsanordnung. Diese unterscheidet sich von der ersten in zwei Hinsichten. Erstens wird dem nach Bürker flüssig erhaltenen Blutstropfen anstatt ein möglichst kleines ein größeres Plasmatröpfchen entnommen, und zweitens wird das Deckglas auf dem untergelegten Objektträger nicht angedrückt, sondern im Gegenteil mit der größten Vorsicht aufgelegt. In diesem Fall haben wir es also mit einer verhältnismäßig dicken Plasmaschicht zu tun. Bei der Besichtigung eines solchen Präparates im Dunkelfeld beobachtet man (wenn auf die Flüssigkeitsschicht und nicht gerade auf die Deckglasunter- bzw. Objektglasoberfläche eingestellt wird) außer Blutplättchen anfänglich nur eine Anzahl anscheinend rundliche "punktförmige" Körperchen (es mag sich hier um die sog. Hämokonien handeln), die sich in lebhafter Brownscher Bewegung befinden. Man bekommt dann zunächst den Eindruck, als ob die Zahl jener Körperchen (die von wechselnder Größe und außerdem nicht alle gleich lichtstark sind) sich vermehrt¹). In dem sonst optisch leeren Dunkelfeld schießen

lungen mit Deck- und Objektglasfehlern (die mir allerdings anfangs genug Possen gespielt haben) gar keine Rede ist. Das geübte Auge lernt bald die Fibrinausscheidungen von den durch Glasfehler erzeugten Bildern unterscheiden.

¹⁾ Als ich die Vermehrung solcher "punktförmiger" Körperchen zum ersten Male, nämlich im NaF-Plasma wahrnahm, war ich zu der Annahme geneigt, daß es sich hier um äußerst feine Fibrinteilchen, also um die erste Ankündigung der Fibrinausscheidung handle, aus denen die länglichen Fibrinmolekelkomplexe bzw. die Nädelchen und Fädchen möglicherweise zum Teil aufgebaut werden könnten, im Sinne der von André Mayer entwickelten Vorstellung. Trotz der vielen Mühe, die ich

dann urplötzlich äußerst feine längliche Elemente von Nadelform empor, und zwar zunächst die vorerwähnten lichtschwächeren _länglichen Punkte" und unmittelbar darauf auch schon lichtstärkere Nädelchen, die äußerst feinen Krystallen sehr ähnlich sehen. Sämtliche feinste Fibrinausscheidungen befinden sich in lebhafter Bewegung. Die Zahl der krystallähnlichen Nädelchen vermehrt sich rasch, indem je größere Nädelchen sichtbar werden, desto weiter der Prozeß fortschreitet. Schließlich erscheinen auch mehr fädchenförmige Nädelchen bzw. nadelförmige Fädchen im Gesichtsfelde, indem später auch längere feinste Fädchen unmittelbar als solche zur Ausscheidung gelangen. Nach etwa 3/4 bis 1 Stunde sieht man fast nur noch größere und sehr große Nadeln sowie, aber spärlicher, richtige sehr dünne, oft sehr lange Fädchen in den Präparaten; nur am Deck- und Objektglas finden sich noch feinere Fibrinausscheidungen angeklebt. Es müssen also die größeren Nadeln sowie die richtigen Fädchen, wenigstens teilweise, aus den feineren Fibrinausscheidungen (die lichtschwächeren Nädelchen. bzw. die "länglichen Punkte", sowie die feineren krystallähnlichen Nädelchen) hervorgegangen sein. Das hat sich denn auch bestätigt. Auf Grund der Verfolgung der Vorgänge an einer größeren Zahl von Präparaten glaube ich nämlich zu der Aussage berechtigt zu sein, daß der Fibrinausscheidungs-

mir naturgemäß in dieser Hinsicht gegeben habe, ist es mir jedoch nicht gelungen, das Hervorgehen von Fibrinnädelchen oder Fibrinfädchen oder gar von den "länglichen Punkten" aus solchen anscheinend rundlichen Körnchen feststellen zu können. Allerdings läßt sich feststellen, daß die Körnchen gelegentlich agglutinieren, und zwar in der Regel zu amorphen Agglomeraten, jedoch ausnahmsweise auch in Längsrichtung. In solchen Scheinfädchen bleibt jedoch die Körnerstruktur noch mehr oder weniger deutlich zu erkennen, während die eigentliche längliche Fibrinausscheidungen sich immer ganz homogen und glatt ausnehmen. Ich bin denn auch später zu der Ansicht gelangt, daß es sich bei diesen "amorphen" Körnchen aller Wahrscheinlichkeit nach nicht um Fibrin handelt. Es mag sich bei diesen vermehrt auftretenden Körnchen (die immerhin eine sehr beschränkte ist) teilweise um von zerfallenen Blutplättchen herrührende Teilchen handeln (meiner Erfahrung nach können auch die Blutplättchen selbst gelegentlich in Längsreihen agglutinieren) und teilweise von anderweitigen aus dem Plasma ausgefällten Substanzen. Auch in plättchenfreiem (Fluorid-)Plasma wird nämlich eine solche Vermehrung von amorphen Körnchen beobachtet.

378 E. Hekma:

vorgang in nach Bürker hergestellten Plasmapräparaten sich histologisch bzw. physikalisch folgendermaßen gestaltet.

- a) Es gelangen nicht nur feinste nadelförmige lichtschwache und lichtstarke (kristallähnliche) Elemente unmittelbar fix und fertig zur Ausscheidung, sondern dasselbe ist der Fall mit einem Teil der größeren und großen Nadeln, sowie mit richtigen kürzeren und längeren, sogar bisweilen sehr langen Fädchen, dermaßen, daß die letzteren für gewöhnlich erst auftreten, nachdem der Fibrinausscheidungs- bzw. "Gerinnungs"-Vorgang schon eine gewisse Zeit im Gange gewesen ist.
- b) Sowohl die lichtschwächeren feinsten, nadelförmigen Fibrinausscheidungen (von denen die allerfeinsten sich, wie erwähnt, gewissermaßen als "längliche Punkte" ausnehmen) wie die feinsten lichtstärkeren (krystallähnlichen) Nädelchen, sowie die etwas größeren (ebenfalls krystallähnlich aussehenden) Nädelchen besitzen die merkwürdige Eigenschaft, sich in Längsrichtung anordnen zu können (was unter Bewegungen der Elemente vor sich geht), und zwar in zweierlei Weise. Einesteils sieht man die länglichen Elemente sich in einfachen Längsreihen zu mehr nadel- oder fädchenförmigen Gebilden anordnen, und andernteils nimmt man ein gleichseitiges Sichgegeneinanderlegen (also eine Anordnung zu gleicher Zeit der Länge und der Quere nach) der Elemente wahr, mit der Folge, daß kürzere, verhältnismäßig dicke Gebilde entstehen, die sich im Dunkelfeld als größere Krystalle, im Hellfeld dagegen als sehr feine Fäserchen präsentieren. Merkwürdigerweise erscheinen sämtliche Erzeugnisse homogen und glatt: es findet offenbar eine sehr innige Verschmelzung bzw. Verklebung der nadelförmigen Molekelkomplexe statt.

Es handelt sich hier eben um Vorgänge, von denen schon in der mehrfach zitierten Arbeit von Schimmelbusch die Rede ist: dieser Autor hat seinerzeit ja schon über eine "Aneinanderreihung von Fibrinnädelchen der Länge nach" berichtet und auch schon hervorgehoben, daß die Fibrinnädelchen klebrig sind.

c) Es können schließlich offenbar die Nädelchen durch "Wachsen" sich verlängern bzw. vergrößern. Man sieht nämlich einen Teil der Nädelchen beim Beobachten länger bzw. größer werden, während sich mit Bestimmtheit feststellen läßt, daß es sich dabei nicht um eine Agglutination bzw. Apposition von

mehreren schon "festen", also ultramikroskopisch wahrnehmbaren Elementen handelt. Man sieht tatsächlich das Nädelchen in unnachspürlicher Weise sich verlängern bzw. vergrößen, und ich weiß diesen Vorgang mit keinem besseren Wort zu bezeichnen als mit dem von Bizzozezo schon verwendeten Namen "Wachsen". Man bekommt den Eindruck, daß ein schon sichtbares Nädelchen, also ein "fest" gewordener Fibrinmolekelkomplex, bereits vorher mit noch nicht "fest" gewordenen, wenigstens ultramikroskopisch noch nicht wahrnehmbaren Fibrinmolekelkomplexen in Zusammenhang stand, indem die letzteren amikroskopischen Molekelkomplexe dann plötzlich in der Form einer Verlängerung bzw. Vergrößerung des ersteren für das bewaffnete Auge wahrnehmbar werden; oder wenn man will, als ob zuvor amikroskopische (längliche?) Fibrinmolekelkomplexe sich auf einen schon mikroskopisch sichtbaren "niederschlügen".

Es zeigt sich also, daß, insoweit es die Fibrinausscheidung in von "natürlichem" Plasma hergestellten mikroskopischen Präparaten betrifft, die Ansicht von Schimmelbusch (wiederholt von Stübel für Säugetierblut), daß alles Fibrin Nadelfibrin sei, dahin abgeändert werden muß, daß das Fibrin in solchen Präparaten zwar zum größten Teil, aber nicht ausschließlich in der Form von Nadeln zur Ausscheidung gelangt. Und weiter, daß die Auffassung von Schimmelbusch, die Fibrinfädchen aus Nädelchen sollten "durch eine Aneinanderreihung der Länge nach" hervorgehen, insoweit den tatsächlichen Verhältnissen entspricht, daß ein Teil der Fibrinfädchen und -fäserchen wirklich in dieser Weise aufgebaut wird. Schimmelbusch hat eben nur eine der Weisen, in denen Fibrinfädchen und -fäserchen entstehen können, allerdings in meisterhafter Weise beschrieben, während sich nunmehr ergeben hat, daß die Fibrinfädchen und -fäserchen außerdem durch "Wachsen" feinerer Fibrinausscheidungen im Sinne Bizzozezos gebildet werden können, indem schließlich die Fädchen und Fäserchen auch unmittelbar als solche fix und fertig zur Ausscheidung gelangen können. Daraus ergibt sich zu gleicher Zeit, daß der von Stübel aufgestellte Satz, es seien die Fibrinfädchen und -fäserchen sämtlich verzerrte Nadeln (bzw. Krystalle), in seiner Allgemeinheit nicht richtig ist. Dieser Satz mag nur insoweit gewissermaßen zutreffen, als es die groben Nadein, in welcher 380 E. Hekma:

der erwähnten Weisen sie denn auch entstanden sein mögen, betrifft. Die groben Nadeln, die sich im Dunkelfeld auch meiner Erfahrung nach wie Krystalle ausnehmen können, präsentieren sich nämlich im Hellfeld als verhältnismäßig dicke, kurze Fäserchen.

Stübel hat übrigens auch offenbar das "Wachsen" der Nadeln beobachtet, denn es befindet sich in der betreffenden Arbeit ein Passus (l. c. S. 380), wo es heißt: "Während die kleinen Nadeln oft so rasch entstehen, daß man den Prozeß unter dem Mikroskop gar nicht verfolgen kann, ist das Wachstum großer Nadeln zuweilen über 1 bis 2 Minuten und unter Umständen noch länger ausgedehnt und läßt sich also bequem beobachten."

Der meines Erachtens interessanteste Vorgang, das von Schimmelbusch schon erwähnte Sich-aneinander-reihen der Nädelchen der Länge nach, scheint Stübel entgangen zu sein, wenigstens finde ich darüber bei ihm keine Angaben. Allerdings äußert der Autor sich dahin, daß "die Fibrinnadeln in derselben Weise miteinander verwachsen wie Krystallnadeln", und daß "die Winkel, unter denen die verwachsenen Nadeln zueinander orientiert sind, oft auffallend gleich seien", indem Stübel darin eins der Argumente für die Krystallisationsnatur des Fibrinbildungsprozesses erblickt; aber diese Äußerung, deren Sinn mir übrigens nicht ganz klar ist, dürfte sich wohl nicht auf den von Schimmelbusch entdeckten Vorgang beziehen.

Ich werde übrigens bei den in nach dem Bürkerschen Prinzip hergestellten Plasmapräparaten wahrzunehmenden Erscheinungen nicht länger verweilen, weil ich fernerhin bei der Besprechung der bei der "spontanen Gerinnung" im Fluoridplasma mikroskopisch zu beobachtenden Vorgänge (in welcher Gerinnungsflüssigkeit sich die erwähnten Erscheinungen klarer und leichter verfolgen lassen) zu ausführlicheren Erörterungen Gelegenheit haben werde. Nur möchte ich nicht versäumen zu bemerken, daß man bei der Fibrinausscheidung bzw. der "Fibringerinnung" in mikroskopischen Plasmapräparaten zwar mit einer "natürlichen" Gerinnungsflüssigkeit zu tun hat, aber daß nichtsdestoweniger der Fibrinausscheidungs- bzw. "Gerinnungs"-Prozeß doch unter einigermaßen künstlichen Umständen stattfindet. Denn es sind die Bedingungen, unter

denen die "Gerinnung" in einem mikroskopischen Präparat vor sich geht, doch etwas andere als die bei der "Gerinnung" einer in einem Gefäß aufgefangenen größeren Blutmenge oder bei der "Gerinnung" einer Blutmenge auf einer Wunde, oder endlich bei der die Thrombenbildung begleitenden Fibrinausscheidung bzw. "Gerinnung", indem allerdings auch in diesen Fällen die Bedingungen in mehreren Hinsichten Unterschiede auf-Darauf werden wir später zu sprechen kommen. Hier sei vorderhand nur bemerkt, daß aus den vorgebrachten Versuchen schon einigermaßen ersichtlich werden dürfte, daß die Ausscheidungsweise und das morphologische Resultat der Fibringerinnung in bedeutendem Maße abhängig ist von den Versuchsbedingungen. Es ergab sich ja, daß bei der zuerst erwähnten Versuchsanordnung, wo es sich um eine außerordentlich dünne Plasmaschicht handelte, durchaus nur feinste und feinere Nädelchen, nur ausnahmsweise auch etwas größere, und zwar äußerst schnell zur Beobachtung gelangten, und daß dieses Bild sich bei der längeren Wahrnehmung kaum änderte. Bei der zweiten Versuchsanordnung dagegen, wo die Vorgänge an einer weit dickeren Plasmaschicht studiert wurden. gelangten zwar auch feinste und feinere Nädelchen zur Wahrnehmung, aber nur vorübergehend. Es wurden hier allerhand interessante Auf- und Ausbauerscheinungen beobachtet, die bei der ersten Versuchsanordnung höchstens nur angedeutet waren. Und es war das Endresultat der "Fibringerinnung" schließlich das Vorhandensein von größeren und verhältnismäßig sehr groben Nadeln (bzw. Fäserchen) sowie von richtigen, gelegentlich ziemlich langen Fädchen, indem in diesem Stadium bzw. bei der beendigten "Fibringerinnung" feinste und feinere Elemente fast ganz vermißt wurden. Nur an Deckglasunterfläche und Objektglasoberfläche fanden sich in dergleichen Fällen noch feinere Elemente, während die letzteren in der freien Zwischenflüssigkeit zum Auf- und Ausbau größerer bzw. längerer Gebilde sozusagen "verbraucht" worden waren. Es weisen m. a. W. schon diese ganz einfachen Versuche darauf hin, daß die Fibrinausscheidung bzw. die Gelbildung auf verschiedenen "Entwicklungsstufen" stehen bleiben kann, und zwar in den vorliegenden Fällen lediglich abhängig von Bedingungen mechanischer bzw. physikalischer Art.

Es war von vornherein gewissermaßen zu erwarten, daß das Endresultat der Fibrinausscheidung bzw. der Gelbildung sich wieder anders gestalten würde, wenn die erwähnten Bedingungen mechanischer bzw. physikalischer Art möglichst ausgeschaltet werden würden. Und das hat sich denn auch bestätigt, wie aus dem folgenden Versuch hervorgehen mag.

Dritte Versuchsanordnung. Überläßt man nämlich den ganzen nach dem Bürkerschen Verfahren auf Paraffin aufgefangenen Blutstropfen in der feuchten Kammer längere Zeit, z. B. während 18 Stunden, sich selbst, so ergibt sich folgendes. Der Tropfen hat seine Halbkugelform nach dieser Zeit nahezu beibehalten, nur scheint er für gewöhnlich ein wenig kleiner geworden zu sein, indem die Kuppe leicht abgeplattet oder gelegentlich auch etwas eingezogen erscheint. Es lassen sich an dem Tropfen unschwer ein nur schwach gefärbter bzw. fast farbloser kleiner Kuppenteil und ein weit größerer, gleichmäßig rot gefärbter Basisteil unterscheiden. Wird das Paraffinblöckchen etwas schräg gestellt, so behält der Tropfen in der Regel seine Form bei. Es wird dadurch der Eindruck erweckt, als ob man mit einem mehr oder weniger gleichmäßig geronnenen Blutstropfen zu tun hätte, was indessen nur scheinbar der Fall ist. Wenn man nämlich mit einer feinen, ein wenig geöffnet gehaltenen Pinzette in den Kuppenteil vorsichtig hineingreift und dann die Pinzette geschlossen zurückzieht, so hat man für gewöhnlich ein kleines Häutchen zum Vorschein gebracht, während der zurückbleibende Teil des Tropfens zu gleicher Zeit etwas zerfließt. Das betreffende Häutchen ist klebrig, elastisch und schwach rosa gefärbt, gelegentlich sieht es etwas gallertig aus. Wird ein solches Häutchen im Wasser hin und her bewegt, so verliert es seine rosa Farbe, das etwaige gallertige Aussehen sowie seine Klebrigkeit, indem nunmehr ein ziemlich festes, elastisches, schneeweißes Häutchen vorliegt, an dessen Rändern makroskopisch sichtbare Fäserchen hinausragen. Wird das gewaschene Häutchen zwischen einem Deck- und einem Objektglas eingeschlossen und im Dunkelfeld besehen, so ist kaum etwas von einer Struktur zu erkennen; tatsächlich sieht man nur eine weißglänzende Masse. Auch im Hellfeld ist wenig zu unterscheiden. Die Struktur des Häutchens tritt erst an den Tag, nachdem man es einer tüchtigen Nadelpräparation, namentlich an den Randteilen, unterworfen hat. Es stellt sich dann heraus, daß solche Häutchen zusammengesetzt sind aus einem stark verfilzten feinen Fädchenund Fäserchenwerk, in dem sich amorphe Körnchen verschiedener Größe eingeschlossen finden.

Wird eines der soeben erwähnten hinausragenden Fäserchen mit Präpariernadeln tüchtig bearbeitet, so kann man es so weit bringen, daß das Präparat nicht nur der Hellfeld-, sondern auch der Dunkelfeldbeobachtung zugänglich wird. Man bekommt dann ebenso wie im Hellfeld nur die altbekannten typischen Fibrinfädchen und -fäserchen zu Gesicht. Die Fädchen sind entweder geschlängelt, oder sie finden sich zwischen größeren Fädchenmassen geradlinig ausgespannt. Übrigens liegen sie meistenteils kreuz und quer durch- oder richtiger übereinander, unter Bildung von Maschen, oder aber sie liegen in Längsbündeln zusammen, welch letztere ihrerseits wieder, indem sie kreuz und quer übereinander liegen, Maschen bilden. Elemente von ausgesprochener Nadelform, geschweige denn von krystallähnlichen Nädelchen werden ganz vermißt.

Es handelt sich bei solchen Häutchen also um ein stark verfilztes Fibrinfädchenwerk, indem von der "Entwicklungsgeschichte" dieses Fädchenwerkes bzw. des Häutchens nichts mehr wahrzunehmen ist. Es liegt hier eben im Prinzip das wirkliche Endstadium des Fibringerinnungsprozesses vor.

Bei der mikroskopischen Untersuchung des auf dem Paraffinblock zurückgebliebenen, etwas zerflossenen Teiles des Blutstropfens stellt sich heraus, daß auch darin bloß Fädchen, keine Nadeln angetroffen werden. Die Zahl der hier vorhandenen Fädchen und Fäserchen ist eine verhältnismäßig niedrige, offenbar zu gering, um die Formelemente unter "Kuchenbildung" einzuschließen; mit der Folge, daß der Tropfen nach der Entfernung des oberflächlichen Häutchens (das mittels der hinausragenden Fasern den Tropfen mehr oder weniger umspannt haben mag) zerfließen konnte.

Die Tatsache, daß das Fibringerinnsel eben vorwiegend in den oberen Schichten des Tropfens angetroffen wird, muß naturgemäß in der Weise erklärt werden, daß das Fibrin sich in noch flüssigem Zustande infolge seiner spezifischen Leichtigkeit in den oberen Schichten des Tropfens angesammelt hat, um erst an dieser Stelle zur Ausscheidung zu gelangen unter der schließlichen Bildung eines aus Fädchen und Fäserchen zusammengesetzten Gels.

Ich habe nun schließlich auch den Versuch noch so eingerichtet, daß der Blutstropfen auf Glas (also auf eine rauhe Oberfläche) aufgefangen und dann in der feuchten Kammer sich selbst überlassen wurde. Der negative Faktor, die glatte Oberfläche, kam hier also in Wegfall. In diesem Falle war das Endresultat der Gelbindung ein etwas anderes als bei der soeben erwähnten Versuchsanordnung, indem der ganze Tropfen, und namentlich die Blut-Glasgrenzschicht, von einem Fädchenwerk durchwebt gefunden wurde. Es ist meine Absicht, auf diese Versuche, die zu gleicher Zeit, wie mir scheint, dazu beitragen könnten, die Bedeutung der negativen und positiven mechanischen bzw. physikalischen Momente bei der Fibringerinnung zu klären, bald näher zurückzukommen.

II. Über die physikalischen bzw. histologischen Vorgänge bei der anscheinend "spontanen" Fibrinausscheidung und Gelbildung im Fluoridplasma.

Die Benutzung des Fluoridplasmas bietet erstens den Vorteil, daß die mikroskopisch zu beobachtenden Erscheinungen in dieser Gerinnungsflüssigkeit sich leichter verfolgen lassen, weil die betreffenden Vorgänge sich hier verhältnismäßig langsamer abspielen; zweitens den, daß man mit einer möglichst blutplättchenfreien Gerinnungsflüssigkeit arbeiten kann, und drittens den, daß die Fibrinausscheidungs- bzw. Gelbildungsvorgänge auch in größeren Flüssigkeitsmengen unter Kontrolle des Mikroskops studiert werden können 1). Das für meine diesbezüg-

¹⁾ Anstatt Fluoridplasma kann man auch durch gewisse andere Mittel flüssig erhaltene Plasmata verwenden, und ich werde später auch über diesbezügliche Versuche berichten. Daß ich für die Versuche betreffs der "spontanen" Fibrinausscheidung bzw. -gerinnung eben NaFplasma verwendet habe, findet seine Ursache in mehreren später näher zu erörternden Gründen. Nur einen dieser Gründe möchte ich hier erwähnen, nämlich den, daß man bei der Verwendung von NaF-Plasma die Gewißheit hat, daß eine Bakterienentwicklung, die sich störend geltend machen könnte, hier nicht in Betracht kommt.

lichen Versuche verwendete Fluoridplasma wurde in der früher¹) ausführlich beschriebenen Weise erhalten, indem das Blut aufgefangen wurde in einem gleichen Teil einer 1- bis 20/0 igen Fluornatriumlösung, während dann das Plasma von den Formelementen mittels Zentrifugierens getrennt wurde. Das frisch abzentrifugierte Plasma kann eventuell sofort für die Versuche verwendet werden. In einem solchen Plasma sind jedoch noch zahlreiche Blutplättchen vorhanden. Das ist namentlich der Fall, wenn man Pferdeblut als Ausgangsmaterial genommen hat; bei der Verwendung von Menschen-, Kaninchen- und vor allem Rinderblut werden eine bedeutend größere Zahl der Plättchen beim Zentrifugieren mit entfernt; jedoch auch in diesen Fällen ist das Plasma bei weitem nicht blutplättchenfrei. Übrigens wurde ja früher auch schon darauf aufmerksam gemacht, daß die Blutplättchen im Fluoridplasma gewissermaßen koneerviert werden, daß m. a. W. die Neigung zum Zerfall der Plättchen hier eine sehr geringe ist. Will man jedoch mit einem möglichst plättchenfreien Plasma arbeiten, so läßt sich zu diesem Zweck solches NaF-Plasma verwenden, in dem schon vorher ein oder mehrere Male eine "spontane" Fibringerinnung (fraktionierte "spontane" Gerinnung) stattgefunden hat 2). ursprünglich noch vorhandenen Blutplättchen werden dann, mitsamt den eventuell noch im Plasma sich vorfindenden spärlichen Formelementen anderer Art, von dem Gerinnsel eingeschlossen und können mit diesem entfernt werden. Es ist dabei und außerdem zwecks der Erhaltung eines möglichst klaren Plasmas empfehlenswert, das, z. B. nach 24 Stunden, gebildete Gerinnsel nicht erst durch Schütteln oder Rühren zusammenballen zu lassen und dann zu entfernen, sondern die Flüssigkeit mitsamt dem Gerinnsel, wie es sich in dem Plasma vorfindet, auf ein Doppelfilter zu bringen: das erhaltene Filtrat stellt dann für gewöhnlich ein klares versuchsfertiges Plasma dar.

Es wurden nun die bei der "spontanen" Gerinnung im NaF-Plasma vor sich gehenden mikroskopisch wahrnehmbaren Erscheinungen einesteils in der Weise studiert, daß von einem einzigen Plasmatropfen ein mikroskopisches Präparat angefertigt

¹⁾ Diese Zeitschr. 63, 184, 1914.

²) Diese Zeitschr. 68, 184, 1914.

386 E. Hekma:

wurde (a), und andernteils dermaßen, daß die verschiedenen "Entwickelungsstadien" der in einer größeren Plasmamenge stattfindenden "spontanen" Fibrinausscheidung bzw. Gelbildung jemals durch das Mikroskop, namentlich im Dunkelfeld, kontrolliert wurden (b). Es möge über die dabei gemachten Erfahrungen hier in aller Kürze berichtet werden.

Ad a. Fertigt man von einem nicht allzu kleinen Tropfen frisch zentrifugierten oder frisch filtrierten (s. oben) Fluornatriumplasma ein mikroskopisches Präparat an, so sieht man zunächst bei der Dunkelfeldbeobachtung, außer eventuell Blutplättchen, nur punktförmige Körperchen, die übrigens keineswegs immer gleich klein sind und die sich in lebhafter Brownscher Bewegung befinden. In den ersten 15 bis 30 Minuten nimmt die Zahl dieser anscheinend rundlichen Körperchen etwas zu¹) und weil sonst anfangs nichts zu sehen ist, wird die Geduld des Beobachters öfters schon auf eine harte Probe gestellt, als dann urplötzlich die feinsten Fibrinausscheidungen, "längliche Punkte" bzw. die lichtschwachen Nädelchen im Gesichtsfeld zu erscheinen anfangen. Fast unmittelbar nachdem man die ersten lichtschwachen Nädelchen entdeckt hat, sieht man auch schon vereinzelte äußerst feine krystallähnliche Nädelchen. Diese Erscheinungen treten in NaF-Plasmapräparaten erst nach geraumer Zeit, 15 bis 30 Minuten, öfters auch erst bedeutend später, ein. Und zwar um so später, je niedriger die Konzentration des in dem Plasma enthaltenen Fluornatriums (zwischen den Grenzen von 0,5 und 10/0) und je dicker die zwischen dem Deck- und Objektglas eingeschlossen sich findende Plasmaschicht ist.

Nachdem die ersten Andeutungen der Fibrinausscheidung sich bemerkbar gemacht haben, beobachtet man Vorgänge, wie ich sie schon teilweise in dem vorhergehenden Abschnitt kurz erwähnt habe. Letztere Beschreibung ergänzend, möge hier folgendes hervorgehoben werden. Die zuerst auftretenden Fibrin-

¹⁾ In den Fällen, wo man mit einer plättchenhaltigen Flüssigkeit zu tun hat, ist naturgemäß die Möglichkeit nicht auszuschließen, daß diese Körperchen teilweise von zerfallenden Blutplättchen herkömmlich sind. Weil sie jedoch auch im filtrierten, plättchenfreien Plasma entstehen, muß ihre Herkunft, wenigstens zum Teil, eine andere sein, und übrigens ist der Plättchenzerfall im NaF-Plasma, wie schon hervorgehoben wurde, ein sehr beschränkter.

ausscheidungen, die feinsten lichtschwachen Säulchen bzw. Nädelchen finden sich in NaF-Plasmapräparaten in sehr lebhafter (Brownscher?) Bewegung; man sieht sie geradezu in der Flüssigkeit tanzen, sich herumtummeln, so daß man öfters die größte Mühe hat, die Teilchen, unter stetem Gebrauch der Mikrometerschraube, im Auge zu behalten¹). Doch gelingt es ziemlich leicht, festzustellen, daß die Nädelchen sich der Länge nach und zu gleicher Zeit hier und da auch der Quere nach aneinanderreihen bzw. aneinanderlegen, unter Bildung von etwas längeren bzw. größeren Gebilden, die ihrerseits wieder zu der Bildung von größeren bzw. längeren Erzeugnissen Veranlassung geben können. Bald schießen nun weiter allmählich im ganzen Präparat nadelförmige Elemente empor, aus denen, entweder durch eine Agglutination der Länge und zu gleicher Zeit auch der Quere nach, oder durch "Wachsen" längere bzw. größere Fädchen- und nadelförmige Gebilde hervorgehen. Die Aneinanderreihung der Nädelchen der Länge nach läßt sich hier besonders schön verfolgen. Man sieht z. B. öfters zwei Nädelchen sich unter lebhafter Bewegung mit ihren spitzen Enden berühren und aneinanderhaften. Offenbar kleben die Nädelchen aneinander (Schimmelbusch hat schon ganz richtig darauf hingewiesen, daß die Nädelchen klebrig sind, und dasselbe gilt offenbar für sämtliche Fibrinausscheidungsformen im Augenblick des "Festwerdens"). Doch ist der Kontakt anfangs für gewöhnlich ein lockerer. Man sieht nämlich gelegentlich, daß die Nädelchen noch jedes für sich Pendelbewegungen machen, indem sie sich außerdem als Ganzes in der Flüssigkeit hin und her bewegen. Nach einiger Zeit wird dann in der Regel der Kontakt ein festerer, es geht aus den zwei Nädelchen ein längeres hervor, das sich als ein ganz homogen aussehendes Nädelchen ausnimmt. Aber bisweilen beobachtet man, daß zwei Nädelchen, die schon in anfänglichen Kontakt getreten waren, unter dem Einfluß von plötzlich auftretenden oder herbeigeführten Flüssigkeitsströmungen wieder getrennt werden, um dann nachher mit anderen Elementen ihr Glück zu versuchen. Wenn die Zahl der in der Flüssigkeit vorhandenen

¹) Fertigt man die Präparate an von Plasma, das während einiger Zeit sich selber überlassen worden ist, so gestalten sich die anfänglichen Erscheinungen schon anders, wie weiterhin dargetan werden wird.

Nädelchen eine größere geworden ist, so findet auch die Aneinanderreihung der Länge (und eventuell zu gleicher Zeit der Quere) nach in größerem Umfange statt, indem drei, vier oder mehr Nädelchen zueinander in Berührung treten.

Die Nädelchen hängen anfänglich aneinander, gewissermaßen wie eine Reihe feiner magnetischer Eisensplitter. Ein solches Fädchen im Werden findet sich für gewöhnlich noch in Bewegung, indem es fortwährend seine Form abändert in der Weise, daß die Einzelnädelchen Winkelstellungen zueinander einnehmen. Verursacht man in diesem Stadium stärkere Flüssigkeitsströmungen z. B. dadurch, daß man den Objekttisch des Mikroskops plötzlich etwas schräg stellt, so sieht man das Erzeugnis unter schlangenartigen Bewegungen in der Flüssigkeit schwimmen. Ist die Bewegung dabei eine sehr starke, so kann es sich ereignen, daß das ganze Erzeugnis wieder in die ursprünglichen Bausteine, die Einzelnädelchen, zerfällt. man jedoch den Vorgang nicht, so wird das Gebilde für gewöhnlich seßhaft, indem es sich dann als ein gerades oder gebogenes feines Fädchen, in dem keine Struktur mehr zu erkennen ist, ausnimmt. Ein solches Fädchen kann gewiß im Dunkelfeld noch den Eindruck einer längeren beiderseitig zugespitzten schlanken Nadel erwecken, aber man könnte es doch mit ebensoviel Recht als ein feines Fädchen bezeichnen.

Obwohl die feinen Nädelchen die ausgesprochene Neigung besitzen, sich in Längsrichtung zu Einzelreihen anzuordnen, so bauen die Nädelchen sich daneben doch auch zu Gebilden von größerem Querdurchmesser auf, indem eine größere Anzahl von Nädelchen sich teilweise der Länge nach an- und teilweise gegeneinander legt und verschmilzt. Dergleichen Vorgänge sieht man namentlich bei schräg gestelltem Objekttisch, und überhaupt lassen sich bei der letzteren Versuchsbedingung mehrere interessante Beobachtungen machen. Stellt man den Objekttisch schräg, nachdem die Fibrinausscheidung sich in vollem Gange befindet, so fangen sämtliche vorhandene Gebilde (insoweit sie nicht am Deck- und Objektglas angeklebt sind), und zwar oft auch solche, die zuvor schon seßhaft geworden waren, zu schweben an, und zwar nach einer Richtung hin. Dabei treten dann die Nädelchen und Nadeln verschiedener Größe in allerhand Weisen zueinander in Beziehung. Eine Anzahl

feinere und größere Nädelchen und Nadeln bildet z.B. ein in die Länge gestrecktes Maschenwerk, das sich als Ganzes in der Flüssigkeit fortbewegt. Dabei werden die Maschen immer enger und mehr in die Länge gestreckt, bis schließlich hier und da die Nädelchen ganz aneinanderschließen, mit der Folge, daß an solchen Stellen Nadelbündel entstehen, die zu Fäserchen verschmelzen bzw. verkleben können, was naturgemäß eine Verringerung der Maschenzahl mit sich bringt. Unter Umständen ereignet es sich sogar, daß das ganze Maschenwerk sozusagen zusammengepreßt wird, indem die Nadeln dabei zu Längsbündeln angeordnet werden, während das Endresultat die Bildung spärlicher gröberer Fädchen und Fäserchen oder sogar eines einzigen groben Fäserchens ist. Solche grobe "Kunstprodukte" lassen sich jedoch nur bei schräg gestelltem Objekttisch erzeugen. Bei horizontal gestelltem Objekttisch sieht man höchstens nur die Bildung eines feinen Fibrinnetzes. Hat man mit einer sehr dünnen Plasmaschicht zu tun, so beobachtet man als Endresultat nur ein äußerst feines Nadelnetz, indem daneben allerhand andere Figuren: Sterne, Rosetten, Pinsel und dergleichen zur Beobachtung gelangen. Bei der Verwendung einer dickeren Flüssigkeitsschicht beobachtet man als Endresultat das Vorhandensein von größeren und sehr großen Nadeln, sowie richtige Fädchen und feinste Fäserchen. Es verdanken diese Erzeugnisse ihr Dasein hauptsächlich einem Aufbau aus feineren "festen" Elementen; teilweise entstehen sie durch "Wachsen", und teilweise (und das gilt namentlich auch für die längeren dünnen Fädchen) entstehen sie unmittelbar fix und fertig als solche.

Es lassen sich also bei der Fibrinausscheidung bzw. "Gerinnung" in mikroskopischen NaF-Plasmapräparaten im großen und ganzen dieselben Vorgänge wahrnehmen wie in nach dem Bürkerschen Verfahren von "natürlichen" Plasmatropfen hergestellten Präparaten.

Wenn noch Zweifel darüber bestehen könnte, ob es sich bei der "spontanen" Fibrinausscheidung im NaF-Plasma um wirkliches Fibrin handelt (und dieser Zweifel ist mir gegenüber von einem sehr kompetenten Gerinnungsforscher ausgesprochen worden), so dürften die vorstehenden und die noch zu nennenden Erfahrungen dazu geeignet sein, jeden Zweifel in dieser Hinsicht zu beseitigen.

Ad b. Überläßt man frisch abzentrifugiertes oder frisch filtriertes (s. früher) Fluornatriumplasma sich selbst bei Zimmertemperatur, z. B. in einem Becherglase, und fertigt man von Zeit zu Zeit mikroskopische Präparate an, so ergibt sich folgendes. Indem anfänglich die Präparate sich mit Ausnahme von einzelnen punktförmigen Körperchen (und eventuell Blutplättchen) bei der Dunkelfelduntersuchung optisch leer zeigen, findet man bei der Herstellung der Präparate nach 1, 2 oder mehr Stunden (abhängig von der Konzentration des im Plasma enthaltenen NaF), nachdem in der Flüssigkeit makroskopisch eine kaum noch wahrnehmbare Trübung zu erkennen ist, folgendes: Man bekommt für gewöhnlich zunächst den Eindruck, daß eine Unmasse von "länglichen Punkten" (bzw. äußerst feine lichtschwache, spindel- oder nadelförmige Elemente) sich in heftiger, wimmelnder Bewegung befinden. Die feinen Fibrinteilchen scheinen sich, sobald sie zusammenstoßen, zu zweien, dreien oder mehreren mit einem Ruck zu vereinigen unter Bildung von größeren und längeren Gebilden, die sich wie homogene Nädelchen ausnehmen und mehr oder weniger stark leuchtend sind. Diese Erscheinungen, die, wie mir scheint, denjenigen, die von O. Lehmann¹) beim Ammoniumoleat beschrieben worden sind, gewissermaßen ähnlich sind, gehen so rasch vor sich, daß man die größte Mühe hat, sie richtig zu erkennen, um so mehr, als das Präparat für gewöhnlich etwas neblig ist. Nach kurzer Zeit verschwindet der Nebel, indem man nunmehr eine große Anzahl von äußerst feinen, sich immerhin noch stark bewegenden, scharf konturierten und leuchtenden Nädelchen in einem dunklen Feld zu Gesicht bekommt. Von nun ab lassen sich die Vorgänge sehr deutlich verfolgen, und man beobachtet dieselben Erscheinungen, die vorstehend beschrieben worden sind.

Innerhalb 6 bis 12 Stunden³) tritt in der Regel (dies gilt

¹) O. Lehmann, Flüssige Krystalle. Isaria-Verlag, München 1910.

²) Ich mache darauf aufmerksam, daß die Fibrinausscheidung in der freien Plasmaflüssigkeit nachweisbar langsamer vor sich geht als in dem Falle, wo es sich als eine Schicht zwischen Objekt- und Deckglas eingeschlossen findet. In dem letzteren Fall ist eben das Plasma in weit größerer Ausdehnung mit "rauhen Oberflächen" (in casu Glas) in Berührung. Ich hebe nachdrücklich hervor, daß diese Tatsache auch zutrifft für ganz formelementenfreies (inkl. blutplättchenfreies) NaF-Plasma.

für Plasmata, die 0.5 bis $0.75\,^0/_0$ NaF enthalten; bei einem größeren Gehalt an NaF bis $1\,^0/_0$ spielen sämtliche Vorgänge sich schneller ab, bei einem niedrigeren außerordentlich viel langsamer) eine sehr starke Trübung in dem Plasma ein. Dieses Stadium ist außerordentlich interessant und instruktiv, wie aus den folgenden Versuchen klar werden mag.

a) Schüttelt man in dem Stadium der starken Trübung die Flüssigkeit vorsichtig, indem man das Becherglas stets nach einer Richtung hin dreht, so bildet sich ein etwas gallertig aussehendes Gerinnselchen aus, das für gewöhnlich nach den oberflächlichen Schichten der Flüssigkeit steigt, indem die Flüssigkeit selber sich zu gleicher Zeit bedeutend aufgehellt hat.

Rührt man, anstatt zu schütteln, die trübe Flüssigkeit mit einem Glasstabe, so wickelt sich ein gallertig aussehendes fadenziehendes Gerinnsel um den Stab herum. Wäscht man nun die durch Schütteln oder Rühren gewonnenen Gerinnsel in Wasser, so erhält man in beiden Fällen eine schneeweiße, elastische Fasermasse. Bei der mikroskopischen Untersuchung ergibt sich, daß diese Fasermasse zusammengestellt ist aus richtigen (vorwiegend langen) Fädchen sowie Fäserchen, indem sich auf und zwischen diesen Gebilden amorphe Substanzen in Körnerform vorfinden. Auch nach einer tüchtigen Bearbeitung mit Präpariernadeln lassen sich in der Masse keine krystallähnlichen Nadeln, sogar überhaupt keine Nadeln nachweisen¹).

Wie soeben erwähnt wurde, hellt sich die trübe Flüssigkeit beim Schütteln oder Rühren auf. Ganz klar wird sie dabei nicht, es bleiben nach der Entfernung des Gerinnsels öfters sogar noch kleine Flöckchen in der Flüssigkeit zurück. Bringt man ein solches Flöckchen mit Hilfe eines feinen Spatels vorsichtig auf einen untergeschobenen Objektträger und fertigt

¹) Es hat dieses Gel also dieselbe Zusammensetzung wie dasjenige, das sich in einem nach Bürker aufgehobenen Blutstropfen schließlich ausbildet. Und andernteils wird es der Aufmerksamkeit des Lesers nicht entgehen, daß diese Gerinnsel grundsätzlich dieselbe Struktur aufweisen wie das durch Schlagen von Blut erhaltene Fibrin. Es besteht nur insoweit ein Unterschied, daß in den ersteren Fällen ein reineres bzw. sehr reines Fibrin vorliegt, während das durch Schlagen von Blut gewonnene von einer Unmasse von Formelementen bzw. deren Resten verunreinigt ist.

man ein mikroskopisches Präparat an, so findet man bei der mikroskopischen Untersuchung, daß solche Flöckchen vorwiegend aus Fädchen und Fäserchen bestehen, während nur ausnahmsweise Gebilde angetroffen werden, die als Nadeln gedeutet werden könnten.

β) Schüttelt oder rührt man jedoch das stark trübe Plasma nicht, sondern stellt man direkt ein mikroskopisches Präparat von der trüben Flüssigkeit her, so kann man in solchen Präparaten eine Unmasse von krystallähnlichen Nädelchen zu Gesicht bekommen. Allerdings muß man hierzu bei der Anfertigung der Präparate äußerst schonend vorgehen. Ich versuchte anfangs mittels einer Pipette etwas von der trüben Flüssigkeit aufzusaugen, mit dem Zweck, einen Tropfen auf einen Objektträger bringen zu können. Das Resultat meiner Bemühungen war nur das, daß sich in, und namentlich um die Mündung der Pipette (auch wenn sehr weite genommen wurden) ein gallertiges, klebriges Gerinnselchen festsetzte. Ein solches Gerinnselchen ließ sich mit einiger Mühe auf einen Objektträger abstreichen. Bei der mikroskopischen Untersuchung solcher Erzeugnisse wurden fast stets nur richtige Fädchen und Fäserchen angetroffen, indem krystallähnliche Nädelchen (auch im Dunkelfeld) ganz oder fast ganz vermißt wurden. Man könnte angesichts dieser Befunde leicht zu der Annahme geneigt sein, daß in der trüben Flüssigkeit nur Fädchen und Fäserchen enthalten seien. Eine solche Annahme entspricht jedoch keineswegs den tatsächlichen Verhältnissen, wie sich schließlich beim Befolgen des folgenden Verfahrens herausstellte.

Es werden zwei Objektträger möglichst vorsichtig in die trübe Flüssigkeit, und zwar parallel zueinander, hineingeschoben. Sodann wird der obere dem untern in Winkelstellung genähert, indem beide nachher langsam zurückgezogen werden. Es bleibt dabei auf dem unteren Objektträger eine kleine Menge der trüben Flüssigkeit zurück, die sofort mit einem Deckglase äußerst vorsichtig bedeckt wird. Das Objektglas wird gereinigt (an den Rändern hängen öfters kleine Gerinnselchen an) und das Präparat sofort der Dunkelfelduntersuchung unterworfen. Der Anblick ist ein überraschender. Man bekommt nämlich zunächst den Eindruck, es mit einem Krystallbrei zu tun zu haben. Dieser Eindruck wird dadurch erweckt,

daß sich an mehreren Stellen in dem Präparat eine große Anzahl von sehr feinen und feineren nadelförmigen, krystallähnlichen Elementen haufenweise vorfindet. An anderen Stellen liegen die Nädelchen mehr zerstreut, indem dabei wieder die schon mehrmals erwähnten Stern-, Rosette-, Pinsel- und andere Figuren zur Beobachtung gelangen. Außerdem sieht man eine Anzahl sich in Bewegung befindender Nädelchen, die für gewöhnlich stärker leuchtend, bzw. glitzernd sind, wie die seßhaft gewordenen. Allerdings sind auch die Nädelchenhaufen in der Regel stark leuchtend, wenn sie nicht allzu dicht sind. — Schließlich findet man für gewöhnlich noch kürzere und längere richtige Fädchen in dem Präparat.

Es stellt sich also heraus, daß das Fibrin auch in dem freien, in einem Glasgefäß sich vorfindenden Fluoridplasma zunächst in der Form von äußerst feinen Teilchen zur Ausscheidung gelangt und daß dabei die feinen krystallähnlichen Nädelchen dermaßen in dem Vordergrund stehen, daß geradezu ein Krystallisationsprozeß vorgetäuscht wird. Und weiter, daß bloß ein mechanischer Eingriff (Schütteln, Rühren, Einsaugen in einer Pipette) genügt, um aus den feinen Fibrinausscheidungen, bzw. den Nädelchen, die bekannten typischen Fibrinfädchen und Fäserchen hervorgehen zu lassen.

Was geschieht nun, wenn man das Plasma im Stadium der starken Trübung, bzw. im Stadium der Nädelchenbildung, nicht schlägt oder schüttelt usw., sondern ruhig sich selbst überläßt? Auch in diesem Fall werden schließlich dieselben Fädchen und Fäserchen ausgebildet, nur bedeutend langsamer. Überläßt man nämlich das Fluoridplasma sich selbst während 24 bis 48 Stunden, so findet man in der Flüssigkeit eine etwas gallertig aussehende Flocken-Fadenmasse schweben. Öfters sind zwischen dem schwebenden Gerinnsel, das anscheinend ein großes Volum einnimmt und der Gefäßwand Verbindungsfäden ausgespannt. Auch wenn man mit der größten Vorsicht und Schonung von einem kleinen Teil dieses Gerinnsels ein mikroskopisches Präparat anfertigt, gelangen in dem Präparat nur Fädchen und Fäserchen zur Wahrnehmung, während Nädelchen sich nicht mehr nachweisen lassen. Es besteht ein solches Ge-

rinnsel eben aus einer Unmasse von kürzeren, längeren und namentlich auch sehr langen Fäserchen und Fädchen, die sozusagen ein Balkengerüst darstellen, in dessen Maschen sich Flüssigkeit eingeschlossen findet. Es läßt sich das Gerinnsel mit einer Pinzette aus der Flüssigkeit entfernen; es nimmt sich dabei wie eine fadenziehende Gallertmasse aus, die nach tüchtiger Wasserwaschung eine schneeweiße, elastische Fibrinfasermasse darstellt.

Überläßt man schließlich das Fluoridplasma noch länger sich selbst, so bildet sich (in einem Becherglase in etwa einer Woche, in einem Reagensglas in 3 bis 4 Tagen) ein "Kuchen" aus. Beim Hin- und Herbewegen des Becherglases nimmt der Kuchen sich wie eine zitternde Gallerte aus; das Reagensröhrchen kann auf den Kopf gestellt werden, ohne daß mehr als ein paar Tropfen Flüssigkeit wegfließen. Löst man den Kuchen mit einer Glasnadel von der Glaswand und überläßt ihn noch weiter, z. B. 24 Stunden, sich selbst, so stellt sich heraus, daß sich der Kuchen, sowohl in dem Becherglas wie in dem Reagensrohr, etwas zusammengezogen hat, indem dabei eine gewisse Menge Flüssigkeit ausgepreßt worden ist, in ganz ähnlicher Weise wie das bei einem gewöhnlichen Blutkuchen stattfindet. Weil diese Zusammenziehung auch im formelementen- und blutplättchenfreien Plasma vor sich geht, wird damit zu gleicher Zeit bewiesen, daß die Contraction auf das Fibrin selbst zurückgeführt werden muß.

Bearbeitet man nun den Kuchen in dem Becherglas mit einem Paar Glasstäben oder schüttelt man das Reagensrohr tüchtig, so zerfällt der Kuchen in beiden Fällen in gallertig aussehende Schollen, die in der freigewordenen Flüssigkeit schwimmen. Wäscht man diese Schollen in Wasser tüchtig aus, so erhält man weiße, elastische Häute-Fasermassen, die laut der mikroskopischen Untersuchung (nach vorhergegangener Nadelpräparation) wieder aus den typischen Fibrinfädchen und -Fäserchen zusammengesetzt sind, indem sich auf und zwischen diesen Substanzen in Körnerform vorfinden. Wir haben also bei diesem "Blutkuchen ohne Formelemente", bzw. bei diesem Fibrinkuchen, nicht zu tun mit einer echten, sondern mit einer scheinbaren Gallerte, die dadurch vorgetäuscht wird, daß sich Flüssigkeit in einem außerordentlich dichten, stark verfilzten Fibrinfädchenwerk eingeschlossen findet.

III. Über die physikalischen bzw. histologischen Vorgänge bei der Fibrinausscheidung bzw. Gelbildung in natürlichen und künstlichen Gerinnungsflüssigkeiten unter dem Einfluß von Reagenzien.

Bei diesen Versuchen kamen als Gerinnungsflüssigkeiten Fluoridplasma, nach Hammarsten hergestellte Gerinnungsflüssigkeiten sowie künstliche Fibrinalkalihydrosole zur Verwendung; als Reagenzien: Blutserum, das Schmidtsche Reagens 1), Säure bzw. saure Salzlösungen; starke Neutralsalzlösungen (NaF, NaCl); CaCl_a-Lösung.

1. Gerinnungsflüssigkeit: fluoriertes Gänseblutplasma. Reagenzien: a) Serum; b) gesättigte NaF-Lösung.

Gänseblut wird aufgefangen in einer gleichen Menge einer $1^{0}/_{0}$ igen NaF-Lösung; das Gemisch wird während einer Stunde zentrifugiert. Das klare, merkwürdigerweise farblose, Plasma wird abpipettiert und zu dem folgenden Versuche benutzt.

- a) Reagens: Serum.
- a₁. Zu 2 ccm des Plasmas wird 1 ccm Rinderblutserum hinzugesetzt. Nach 10 Minuten schwache, nach 17 Minuten starke Trübung. Nach 25 Minuten kann das Röhrchen auf den Kopf gestellt werden, ohne daß mehr als ein paar Tropfen Flüssigkeit abtropfen. Beim sanften Schütteln nimmt die Probe sich wie eine zitternde Gallerte ("Kuchen") aus, indem dabei etwas Flüssigkeit frei wird. Wenn nunmehr stark geschüttelt wird, verwandelt sich die scheinbare Gallerte in ein Gerinnselchen, das in der freigewordenen Flüssigkeit schwimmt. Nach tüchtiger Wasserwaschung liegt eine weiße, elastische Fibrinfasermasse vor, die laut der mikroskopischen Untersuchung aus sehr zarten, kürzeren und längeren Fibrinfädchen zusammengestellt ist.
- a₂· Es werden je 1 Tropfen des Plasmas und 1 Tropfen Rinderblutserum auf einen Objektträger gebracht und durch Auflegen eines Deckglases vereinigt. Die ultramikroskopische Untersuchung des Präparates ergibt folgendes: Nach 6 Minuten werden "längliche Punkte" sichtbar und unmittelbar darauf

¹⁾ Bzw. das vermeintliche Schmidtsche Fibrinferment. Man vergleiche hierzu meine Ausführungen in der Intern. Zeitschr. f. physikal.chem. Biologie 1. c.

erscheinen feinste krystallähnliche Nädelchen. Nach 15 Minuten ist das ganze Präparat von feineren, aber namentlich größeren Nadeln durchsetzt. Man bekommt den Eindruck, daß die Nädelchen im allgemeinen schlanker sind als diejenigen aus Rinderblut von ungefähr derselben Länge. Die Auf- und Ausbauerscheinungen der feineren, sich in lebhafter Bewegung befindenden Fibrinformelemente zu größeren lassen sich recht schön verfolgen; sie gehen in ähnlicher Weise vor sich, wie früher an anderem Material beschrieben worden ist, wenn auch das An- und Gegeneinanderreihen der Länge nach hier stark im Vordergrund steht 1). Nach 8/4 Stunden sind in dem Präparat bloß längere Nadeln vorhanden, während richtige Fädchen fast ganz vermißt werden. Nur an der Deckglasunterfläche finden sich noch feinere Elemente, jedoch in geringer Zahl. Möglicherweise mag das dem Umstande zu verdanken sein, daß die "Fibrinformelemente" aus Vogelblut weniger klebrig zu sein scheinen als die entsprechenden Elemente aus Menschen-, Rinder- und Pferdeblut. -

- b) Reagens: Gesättigte NaF-Lösung.
- b₁. 1 ccm Plasma + 2 ccm gesättigte NaF-Lösung werden in einem Reagensröhrchen zusammengebracht. Nach 5 Minuten starke Trübung und feine Flöckchen. Indem dann geschüttelt wird, bildet sich ein zusammenhängendes Gerinnselchen aus, das sich nach Wasserwaschung als eine weiße, elastische Fasermasse ausnimmt. Mikroskopisch: typische kürzere und längere Fibrinfädchen.
- b₂. 1 Tropfen des Plasmas + 2 Tropfen einer gesättigten NaF-Lösung werden zu einem mikroskopischen Präparat vereinigt. Die sofortige Beobachtung im Dunkelfeld ergibt das Vorhandensein einer Unmasse von sehr schlanken, krystallähnlichen Nädelchen.

Aus dem Versuch 1 geht also hervor:

Daß die Fibrinausscheidung im fluorierten Vogelblutplasma sowohl unter dem Einfluß von gesättigter

¹⁾ Das ist meiner Erfahrung nach bei Vogelblut in der Regel der Fall. Außer mit Gänseblut habe ich namentlich mit dem leicht und billig zu beschaffenden Sperlingsblut gearbeitet. Fluoriertes Vogelblutplasma eignet sich eben ganz besonders dazu, um die Aufbauvorgänge zu studieren.

NaF-Lösung wie von Serum zunächst in Form von "länglichen Punkten" und krystallähnlichen Nädelchen vor sich gehen kann. Daß aus diesen Elementen größere durch Aufbau entstehen, indem das Endresultat laut a, und b, die Bildung eines richtigen Fädchenwerks ist. Daß die Fibrinausscheidung bzw. Gelbildung unter dem Einfluß von gesättigter NaF-Lösung bedeutend scheller vor sich geht als unter dem Einfluß von Blutserum.

- 2. Gerinnungsflüssigkeit: Fluoridplasma (Rinderblut). Reagenzien: a) Serum, b) gesättigte NaF-Lösung, c) $\operatorname{CaH_4(PO_4)_2}$ -Lösung. Herstellung der Gerinnungsflüssigkeit: Rinderblut wird aufgefangen in einem gleichen Teil einer $1^1/2^0/0$ igen Fluornatriumlösung und während einer Stunde zentrifugiert. In dem abgehobenen und dann sich selbst überlassenen Plasma findet sich am nächsten Tage ein "spontan" gebildetes Gerinnsel vor. Das Plasma (A) wird durch ein Doppelfilter von dem Gerinnsel getrennt und für die folgenden Versuche verwendet.
 - a) Reagens: Serum.
- a,. Zu 6 ccm des Plasmas A wird 1 ccm Rinderserum hinzugegeben, indem die Flüssigkeiten durch kurzes Rühren mit einem Glasstäbchen schnell gemischt werden. Es wird von einem Tropfen des Plasma-Serumgemisches sofort ein mikroskopisches Präparat hergestellt. Bei der ultramikroskopischen Untersuchung zeigt sich das Dunkelfeld, außer den üblichen punktförmigen Körnchen, optisch leer. Nach etwa 5 Minuten erscheinen "längliche Punkte" in großer Zahl, zwischen denen unmittelbar nachher auch schon einzelne feinste krystallähnliche Nädelchen sichtbar werden. Sämtliche Elemente finden sich in lebhafter Bewegung, insoweit sie nicht am Deck- und Objektglas haften. Im Laufe der nächsten 5 Minuten vermehrt sich die Zahl der Nädelchen, indem immer größere Nädelchen zur Beobachtung gelangen. Die Ausscheidungs- und Aufbauerscheinungen gehen so rasch vor sich, daß sie sich nur mit der größten Mühe verfolgen lassen, wozu namentlich auch der Umstand beiträgt, daß die Elemente sich in Bewegung befinden. Alles wimmelt geradezu durcheinander, indem außerdem an einigen Stellen örtliche feine Nebel auftreten, die das

Bild trüben. Nach einiger Zeit ist der Grund wieder dunkel geworden, denn die Nädelchen, die sich inzwischen bedeutend größer gestalten als vorher, nehmen sich nunmehr zu gleicher Zeit schärfer aus. Außer Nadeln sieht man jetzt auch spärliche richtige Fädchen, die merkwürdigerweise lichtschwächer sind als die Nädelchen.

a₂. Zu 25 ccm des Plasmas A werden 5 ccm Rinderserum hinzugesetzt in einem Bechergläschen. Nach 5 Minuten sind makroskopisch noch keine Veränderungen wahrzunehmen. Dann erscheint eine kaum merkliche Trübung, die sich bald verstärkt. Es wird nunmehr mittels zweier Objektgläser in der früher beschriebenen Weise schonend eine kleine Menge der trüben Flüssigkeit entnommen und zu der Herstellung eines mikroskopischen Präparates verwendet. Bei der sofortigen Dunkelfelduntersuchung sieht man eine Unmasse von krystallähnlichen Nädelchen, die teilweise haufenweise liegen und seßhaft sind, so daß sie den Eindruck von einem "Krystallbrei" erwecken könnten. In den Räumen zwischen den Nadelhaufen finden sich zahlreiche sich bewegende Nädelchen.

Die trübe Masse in dem Becherglase wird nun mit einem Glasstabe gerührt. Dabei wickelt sich ein etwas gallertig aussehendes, fadenziehendes Gerinnsel um den Stab herum, indem zahlreiche "Flocken" in der Flüssigkeit zurückbleiben. Das Gerinnsel läßt sich mit dem Glasstabe entfernen, wird in Wasser abgestrichen und verwandelt sich nach tüchtiger Wasserwaschung in eine weiße, elastische Fasermasse, in der sich laut der mikroskopischen Untersuchung nur richtige typische Fibrinfädchen, also keine Nadeln vorfinden. Die zurückgebliebene flockenenthaltende Flüssigkeit wird weiter sich selbst über-Am nächsten Tage hat sie sich in eine zitternde Gallerte verwandelt. Offenbar war also eine weitere nachträgliche ("fraktionierte") ausgiebigere Fibrinausscheidung aufgetreten. Beim Rühren mit einem Glasstabe fällt die scheinbare Gallerte in gallertig aussehende Häute und Fasern auseinander, die in der freigewordenen Flüssigkeit schwimmen. Den Häutchen und Fasern liegt ein typisches Fibrinfädchenwerk (mit zahlreichen eingeschlossenen Körnchen) zugrunde, wie sich nach Nadelpräparation bei der mikroskopischen Untersuchung ergibt.

Der übrigbleibende Teil des Plasmas A war stehen geblieben.

Am nächsten Tage hatte sich wiederum ein "spontanes" Gerinnsel gebildet, das durch Filtrieren von dem Plasma abgesondert wurde. Letzteres Plasma (B) diente zu den folgenden Proben.

- b) Reagens: Gesättigte NaF-Lösung.
- b₁. 2 ccm des Plasmas B werden mit 4 ccm gesättigter NaF-Lösung versetzt. Nachdem die Flüssigkeiten schnell gemischt worden sind, wird sofort von einem Tropfen des Gemisches ein mikroskopisches Präparat angefertigt. Bei der Dunkelfelduntersuchung zeigt sich das Gesichtsfeld zunächst etwas verschleiert. Innerhalb kurzer Zeit macht der "Nebel" einer Unmasse von krystallähnlichen Nädelchen in einem dunklen Felde Platz. Die Elemente finden sich in wimmelnder Bewegung; die fernerhin zu beobachtenden Aufbauerscheinungen sind recht schön zu verfolgen.
- b₂. 10 ccm des Plasmas B werden mit 15 ccm einer gesättigten NaF-Lösung in einem Bechergläschen gemischt. Nach 10 Minuten Trübung. Mikroskopischer Befund: Unmasse von teilweise zu Haufen zusammenliegenden krystallähnlichen Nädelchen; außerdem zarte richtige Fädchen. Nach 20 Minuten das Becherglas vorsichtig schüttelnd, bilden sich Flocken und Fäden aus, in denen bei der Dunkelfelduntersuchung keine Nädelchen mehr nachgewiesen werden können: sie bestehen nur aus richtigen Fädchen.
 - c) Reagens: $5^0/_0$ ige CaH₄(PO₄)₂-Lösung.
- c₁. In ein Reagensröhrchen werden 2 Tropfen einer 5 % jegen CaH₄(PO₄)₂-Lösung hineingebracht, aus dem dann die Tropfen zugleich ausgeschleudert werden, so daß der Bodenteil des Röhrchens von der sauren Kalksalzlösung nur benetzt wird. Es wird nunmehr mit einer Pipette so viel (etwa 2 ccm) des Plasmas B in das Röhrchen hineingebracht, bis ein beim auffallenden Kunstlicht wahrnehmbarer Schimmer eintritt. Indem dann die Probe sich selbst überlassen wird, entsteht innerhalb einiger Minuten eine stärkere Trübung, die sich beim Schütteln in eine Flocken-Fadenmasse verwandelt. Ultramikroskopisches Bild: Fädchenwerk, in dem sich eine große Anzahl feinerer und gröberer Körnchen eingeschlossen finden.
- c_2 . 1 Tropfen des Plasmas B wird neben einem äußerst kleinen Tropfen einer $1^0/_0$ igen $CaH_4(PO_4)_2$ -Lösung auf einen

Objektträger gebracht; die Tropfen werden durch Auflegen eines Deckglases vereinigt. Bei der sofortigen Dunkelfelduntersuchung bekommt man an einigen Stellen nur eine größere Anzahl feinerer und gröberer Körnchen in einem Dunkelfeld zu Gesicht; an anderen Stellen ist das Präparat neblig. Innerhalb einiger Minuten erscheinen nun an den dunklen Stellen des Gesichtsfeldes "längliche Punkte" und krystallähnliche Nädelchen zwischen den Körnchen; zu gleicher Zeit verschwinden die örtlichen Nebel, in dem an den entsprechenden Stellen nunmehr teilweise Nädelchen und teilweise äußerst zarte richtige Fädchen sichtbar werden. Die Fädchen liegen meist zu feinen Längsbündelchen zusammen und werden zum Teil von Körnchen verdeckt. Manche Einzelfädchen sind so stark mit Körnchen besetzt, daß man bei oberflächlicher Betrachtung den Eindruck bekommen könnte, es mit aus Körnchen zusammengesetzten Scheinfädchen zu tun zu haben.

Es ergibt sich also:

daß auch bei der Gerinnselbildung im Rinderblutplasma unter dem Einfluß sowohl von einer sauren Kalksalzlösung und gesättigter NaF-Lösung wie von Serum das Fibrin zunächst in der Form von nadelförmigen Elementen zur Ausscheidung gelangt, indem das Endresultat der Gelbildung auch hier das Entstehen eines richtigen Fibrinfädchenwerks ist;

daß also in diesen Fällen die Fibrinausscheidung und Gelbildung morphologisch in derselben Weise vor sich geht, wie in den früheren.

3. Gerinnungsflüssigkeit: Fluoridplasma (Rinderblut).

Reagenzien: a) das Schmidtsche Reagens¹); b) CaCl₂-Lösung; c) gesättigte NaCl-Lösung.

Herstellung der Gerinnungsflüssigkeit:

Rinderblut wird aufgefangen in einem gleichen Teil einer 1 % jegen NaF-Lösung. Das Gemisch wird zentrifugiert und das Plasma abgehoben. Nachdem in dem sich selbst überlassenen Plasma im Verlaufe von 48 Stunden 2 mal eine "spontane" Ge-

¹⁾ Das Schmidtsche Reagens bzw. die vermeintliche Schmidtsche "Fibrinfermentlösung" wurde nach der ursprünglichen Schmidtschen Vorschrift hergestellt. Man vgl. hierzu: Internat. Zeitschr. f. physikal.-chem. Biol. l. c.

rinnselbildung stattgefunden hatte, wird das abfiltrierte Plasma für die folgenden Versuche verwendet.

a) Reagens: das Schmidtsche Reagens.

Von einem Tropfen des Plasmas + einem Tropfen des Schmidtschen Reagenses wird ein mikroskopisches Präparat angefertigt. Dunkelfeld zunächst, außer punktförmigen Körperchen, optisch leer. Nach 10 Minuten erscheinen "längliche Punkte" (indem die Zahl der punktförmigen Körperchen vorher bestimmt zugenommen hat), und unmittelbar nachher die schönsten krystallähnlichen Nädelchen. Nebelbildung wird nicht beobachtet. Nach einer halben Stunde wird das Präparat von Nadeln und richtigen zarten Fädchen durchsetzt gefunden.

- b) Reagens: eine 50/nige CaCl2-Lösung.
- 1 Tropfen des Plasmas + ein möglichst kleiner Tropfen einer 5% jegen CaCl₃-Lösung werden zur Herstellung eines mikroskopischen Präparates verwendet. Dunkelfeldbeobachtung. Zunächst nur zahlreiche feinere und gröbere Körnchen, die teilweise auf Haufen, teilweise in Längsreihen angeordnet sich vorfinden. Das Gesichtsfeld wird bald verschleiert. Dann zieht der Nebel weg, indem nunmehr eine große Anzahl von lichtschwachen Nädelchen und namentlich richtige feine Fädchen sichtbar werden. An vielen Stellen sind die Nadeln, Fädchen und Fädchenbündel mit Körnchen besetzt.
 - c) Reagens: gesättigte NaCl-Lösung.
- 1 Tropfen des Plasmas + 1 Tropfen einer gesättigten NaCl-Lösung¹) werden auf einem Objektträger durch Auflegen eines Deckglases vereinigt. Die Dunkelfeldbeobachtung ergibt zunächst nur das Vorhandensein von punktförmigen Körnchen in erheblicher Menge. Innerhalb einiger Minuten entsteht ein weißgrauer Nebel, der bald verschwindet, jedoch nicht an allen Stellen zu gleicher Zeit. Dann bekommt man eine Unmasse von lichtschwachen Nädelchen und richtigen feinen Fädchen in einem nunmehr wieder dunklen Felde zu Gesicht. Die Fädchen sind seßhaft; einige sind so lang, daß sie das Gesichtsfeld fast ganz durchziehen. Die meisten liegen in feinen Längsbündeln, die teilweise von Körnchen verdeckt werden,

¹⁾ Es kam bei meinen Versuchen durchaus nur reines Kochsalz (Kahlbaum) zur Verwendung.

zusammen. Die feinsten nadelförmigen Elemente befinden sich fast ausnahmslos in Bewegung; sie erwecken mehr den Eindruck von feinen nadelförmigen Fädchen als von Krystallen, um so mehr, als sie lichtschwach erscheinen. Übrigens läßt sich auch hier eine An- und Gegeneinanderreihung der Länge nach sehr leicht verfolgen. Die Erzeugnisse nehmen sich ebenfalls als nadelförmige, immerhin verhältnismäßig lichtschwache, oft gebogene Fädchen oder besser Fäserchen aus, indem ihr Dickendurchmesser bedeutend größer ist als der der unmittelbar als solche ausgeschiedenen Fädchen.

Es zeigt sich also:

daß auch die Fibrinausscheidung im Fluoridplasma unter dem Einfluß des Schmidtschen Reagenses zunächst in Form von Nädelchen stattfinden kann; daß dasselbe der Fall ist unter dem Einfluß von CaCl₂ oder Kochsalz, dermaßen, daß dem nadelförmigen Elemente dabei das Krystallähnliche mehr oder weniger abgeht.

4. Gerinnungsflüssigkeit: künstliches Fibrinalkalihydrosol, und zwar: eine Lösung von durch das Schmidtsche Reagens aus NaF-Plasma erhaltenem Fibrin in ⁿ/_{sm}-NaOH.

Reagenzien: a) Serum; b) das Reagens von Schmidt; c) CaCl₂-Lösung; d) das Reagens von Schmidt + CaCl₂-Lösung.

Herstellung der Gerinnungsflüssigkeit: Rinderblut wird aufgefangen in einem gleichen Teil einer 1º/oigen NaF-Lösung und zentrifugiert. Das Plasma wird abgehoben und sich selbst überlassen. Am nächsten Tage hat sich ein Gerinnsel ausgebildet, von dem das Plasma durch Filtrieren geschieden wird.

Zu 90 ccm des abfiltrierten Plasmas werden hinzugesetzt: 30 ccm des Schmidtschen Reagenses. Nach 15 Minuten Trübung, die sich nach einer halben Stunde bedeutend verstärkt hat. Indem der Behälter um seine Längsachse schnell gedreht wird, bildet sich ein zusammenhängendes, fädiges Gerinnsel aus. Das Gerinnsel wird mit zwei Glasstäbchen gegen die Wand des Behälters gedrückt und die Flüssigkeit abgegossen. Nach wiederholter Wasserwaschung stellt das Gerinnsel eine schneeweiße, etwas elastische Fibrinfasermasse dar, die laut der mikroskopischen Untersuchung aus typischen Fibrinfädchen zusammen-

gestellt wird. Von dieser Fibrinmasse wird ein Teil in n/500-NaOH übertragen. Innerhalb einer halben Stunde ist glatte Lösung eingetreten. Die filtrierte Lösung ist ganz klar. Mit dem Filtrat (das künstliche Fibrinalkalihydrosol also) wurden die folgenden Versuche, die ich der Kürze wegen tabellarisch vereinige, angestellt.

	Versuchsreihe A			Reagensglasproben
$\mathbf{a_1} \\ \mathbf{b_1} \\ \mathbf{c_1} \\ \mathbf{d_1}$	Lösg. v. Fibrin in ^a / ₅₀₀ -NaOH ldem Idem Idem	3	n	+ 1 ccm Serum + 1 n Reagens von Schmidt + 2 Tropfen 5% ige CaCl2-Lösung + 1 ccm Reagens von Schmidt + 2 Tropfen 5% ige CaCl2-Lösung

ad a₁. Nach 2 Minuten scheinbare Gallerte, die beim Schütteln in eine Fasermasse übergeht, und der laut der mikroskopischen Untersuchung ein Fibrinfädehenwerk zugrunde liegt.

ad b₁. Nach 10 Minuten keine Veränderung. Nach einer halben Stunde glasig-durchsichtige Gallerte. Bei sanftem Schütteln fällt die scheinbare Gallerte in glasig aussehende Klümpchen auseinander. Indem dann stärker geschüttelt wird, verlieren die Klümpchen bzw. "Flocken" ihr glasig-gallertiges Aussehen und stellen weiße Häutchen dar. Nach tüchtiger Wasserwaschung: schneeweiße Häutchen und Fasern. Mikroskopisch: Fibrinfädchenwerk.

ad c_1 . Sofort Trübung. Nach 2 Minuten bei sanftem Schütteln weiß aussehende Faden-Flockenmasse. Mikroskopisch: Fibrinfädchen.

ad d₁. Verhält sich wie die Probe c₁.

	Versuchsreihe B		Mi		skopische Präparate angefertigt von
a, b,	Lösg. v. Fibrin in */ ₅₀₀ -NaOH Idem	2 2	Tropfen		1 Tropfen Serum 1 "Reagens von Schmidt
c ₃	Idem	2	n	+	1 möglichst kleiner Tropfen einer 5% igen CaCl ₂ -Lösg.
d ₂	Idem	2	n	+	1 Tropfen Reagens von Schmidt $+$ 1 möglichst kleiner Tropfen einer $5^{0}/_{o}$ igen CaCl ₂ -Lösung

Bei der Dunkelfelduntersuchung ergibt sich folgendes:

In a_2 , c_2 und d_2 treten innerhalb weniger Minuten eine Unmasse von "länglichen Punkten" und außerordentlich feine

Nädelchen auf, indem bald darauf größere, lichtstärkere Nädelchen, die krystallähnlich aussehen, sichtbar werden. In b₂ fängt die Fibrinausscheidung erst nach etwa 15 Minuten an, verläuft übrigens in derselben Weise wie in den anderen Präparaten. Sämtliche Bilder sind besonders klar und instruktiv wegen des Umstandes, daß nur sehr spärliche runde Körnchen in den Präparaten vorhanden sind und daß die Beobachtung nicht von Nebelbildungen gestört wird. Die An- und Gegeneinanderreihung der Elemente der Länge nach läßt sich in sämtlichen Präparaten dementsprechend recht schön verfolgen.

Es stellt sich also heraus:

Daß auch in einem künstlichen Fibrinalkalihvdrosol die Fibrinausscheidung in casu unter dem Einfluß von Serum, von dem Schmidtschen Reagens und von einer CaCl.-Lösung, zunächst stattfindet in Form von "länglichen Punkten" und Nädelchen, die Krystallen sehr ähnlich sehen; daß das Endresultat auch in diesen Fällen die Bildung eines typischen Fibrinfädchenwerkes ist; daß also, wie auch die direkte Beobachtung aufweist, aus den anfänglich zur Ausscheidung gelangenden länglichen, nadelförmigen Ultramikronen und Mikronen durch Aufbau und zwar durch eine An- und Gegeneinanderreihung der Länge nach, Fibrinfädchen hervorgehen. Besondere Aufmerksamkeit verdient, daß nicht nur das Schmidtsche Reagens an sich, sondern auch eine CaCl.-Lösung allein bei künstlichen Fibrinalkalihydrosolen Fibrinausscheidung bzw. Gelbildung zu erzeugen ver mag^1).

¹) Es möge zu dergleichen Versuchen noch folgendes bemerkt werden. Die künstlichen Fibrinalkalihydrosole, die "Lösungen" von Fibrin in äußerst schwachem Alkali also, müssen innerhalb kurzer Zeit nach ihrer Herstellung zu den Versuchen verwendet werden. Läßt man nämlich die "Fibrinlösung" eine gewisse Zeit stehen, bevor man sie gebraucht, so kann es sich ereignen, daß man bei der Anstellung der vorgebrachten und anderen Versuche nur richtige Fädchen oder gar "Schollen" zu Gesicht bekommt. Wenn man die "Fibrinlösung" längere Zeit, z. B. 24 bis 48 Stunden, sich selbst überläßt, so bildet sich öfters "spontan" eine durchsichtige Gallertmasse aus ("Altern" der Sole). Bei der mikro- bzw. ultramikroskopischen Untersuchung einer solchen Gal-

5. Gerinnungsflüssigkeit: Künstliches Fibrinalkalihydrosol, und zwar: eine Lösung von auf "spontanem" Wege in NaF-Plasma ausgeschiedenes Fibrin in 1/400 NaOH.

Reagenzien: a) Serum; b) NaH₂PO₄-Lösung; c) CaCl₂-Lösung; d) gesättigte NaCl-Lösung; e) gesättigte NaF-Lösung; f) "spontane" Gelbildung.

Herstellung der Gerinnungsflüssigkeit.

Rinderblut wird aufgefangen in einer gleichen Menge einer $1^1/_2{}^0/_0$ igen NaF-Lösung und das Gemisch während 1 Stunde zentrifugiert. Das Plasma wird abpipettiert und sich selbst überlassen. Nach 24 Stunden hat sich ein "spontanes" Gerinnsel ausgebildet, das entfernt wird. Das Plasma wird filtriert und abermals sich selbst überlassen: Nach weiteren 24 Stunden findet sich aufs neue ein "spontanes" Gerinnsel vor. Das Gerinnsel wird mit einem Glasstabe, um den es sich wickelt, aus der Flüssigkeit herausgenommen, in destilliertem Wasser gewaschen und dann in $^1/_{400}$ -NaOH übertragen. Die weiße Fasermasse hat sich nach $^1/_2$ Stunde gelöst. Die filtrierte Lösung, das künstliche Fibrinalkalihydrosol, stellt eine ganz klare Flüssigkeit dar und zeigt sich bei der ultramikroskopischen Untersuchung praktisch optisch leer. Es wird diese Gerinnungsflüssigkeit bei den folgenden Versuchen benutzt.

lerte findet man nie Nädelchen und nur ausnahmsweise Fädchen; in der Regel gelangen nur längliche "Schollen" zur Beobachtung. Letztere lassen gewissermaßen an Harnzylindern denken und namentlich an die von Virchow und von Nasse beschriebenen "Schollen". In diesem Spezialfall haben wir es möglicherweise mit einer echten Gallerte zu tun.

Übrigens möchte ich noch hervorheben, daß für die Herstellung von künstlichen Fibrinalkalihydrosolen äußerst niedrig konzentriertes Alkali verwendet werden muß, um die Fibrinausscheidung durch Serum, das Schmidtsche Reagens und CaCl₂-Lösungen herbeiführen zu können. Dasselbe gilt bei der Verwendung von Neutralsalzlösungen (NaF, NaCl) als Reagens, dementgegen nicht für Säuren und sauren Salzen; von den letztgenannten Reagenzien wird auch in solchen Fibrinalkalihydrosolen, die mittels weniger schwachem Alkali hergestellt worden sind, Fibrinausscheidung hervorgerufen. Bei solchen Fibrinalkalihydrosolen, für deren Herstellung "/₅₀₀-NaOH verwendet worden ist, gelingen sämtliche erwähnte Reaktionen meiner Erfahrung nach immer; bei "/₄₀₀-NaOH für gewöhnlich und bei "/₃₀₀-NaOH unter Umständen. Es übt dabei zu gleicher Zeit die Konzentration des Fibrins in den Solen einen gewissen Einfluß aus.

- a) Reagens: Serum.
- a₁. 2 ccm der Gerinnungsflüssigkeit werden mit 1 ccm Rinderserum in einem Reagensröhrchen gemischt. Nach 5 Minuten: Trübung; nach 10 Minuten bei sanftem Schütteln Gerinnselbildung, welches Gerinnsel laut der mikroskopischen Untersuchung aus einem typischen Fibrinfädchenwerk besteht.
- a₂. 1 Tropfen der Gerinnungsflüssigkeit wird neben 1 Tropfen Serum auf einen Objektträger gebracht. Beide Tropfen werden durch ein Deckglas vereinigt und das Präparat sofort der Dunkelfeldbeobachtung unterworfen. Anfangs optisch leeres Gesichtsfeld mit Ausnahme einiger punktförmigen Körperchen. Nach etwa 3 Minuten wird das dunkle Feld verschleiert durch einen weißgrauen Nebel. Letzterer verschwindet bald ziemlich plötzlich, indem nunmehr in dem sonst dunklen Gesichtsfelde eine Unmasse von feinsten und feineren Nädelchen beobachtet werden.
 - b) Reagens: NaH, PO,-Lösung.
- b_1 . Ein Reagensröhrchen wird mit ein paar Tropfen einer $5^0/_0$ igen sauren phosphorsauren Natriumlösung ausgespült, so daß der Bodenteil von der Flüssigkeit benetzt wird. Dann wird mit einer Pipette so viel der Gerinnungsflüssigkeit in das Röhrchen hineingebracht, bis eine makroskopisch wahrnehmbare (weiße) Trübung erscheint. Wenn die Trübung sich im Laufe einiger Minuten verstärkt hat, wird sanft geschüttelt. Es entsteht dabei eine Flocken-Fadenmasse, der laut der mikroskopischen Untersuchung ein typisches Fibrinfädchenwerk zugrunde liegt.
- b₂. Von 2 Tropfen der Gerinnungsflüssigkeit und 1 kleinen Tropfen einer 5 °/₀ igen NaH₂ PO₄-Lösung wird ein mikroskopisches Präparat angefertigt. Bei der sofortigen Dunkelfelduntersuchung ergibt sich, daß an einzelnen Stellen "längliche Punkte" und äußerst feine Nädelchen in einem Dunkelfelde vorhanden sind, während sich an einigen anderen Stellen sehr umschriebene weiße Nebel vorfinden, etwa wie kleine Wölkchen an einem Sternenhimmel. Nach kurzer Zeit verschwinden die Nebelchen, und das ganze Präparat ist mit Nädelchen durchsät.
 - c) Reagens: CaCl,-Lösung.
 - c. Zu 2 cem der Gerinnungsflüssigkeit werden 2 Tropfen

- einer $5^{\,0}/_{0}$ igen CaCl₂-Lösung hinzugesetzt. Es entsteht fast sofort eine leichte Trübung, die sich bald verstärkt und beim Schütteln in ein weißes Gerinnselchen übergeht. Mikroskopisch: Fibrinfädchenwerk.
- c_2 . Von 2 Tropfen der Gerinnungsflüssigkeit und 1 kleinen Tröpfehen einer $5\,^0/_0$ igen CaCl_2 -Lösung wird ein mikroskopisches Präparat hergestellt. Ultramikroskopisch: "längliche Punkte" und lichtschwache Nädelchen. Die Aufbauerscheinungen werden während $^1/_4$ Stunde verfolgt; eine Nebelbildung wird in diesem Falle nicht wahrgenommen.
 - d) Reagens: Gesättigte NaCl-Lösung.
- d₁. Zu 2 ccm der Gerinnungsflüssigkeit werden 2 ccm einer gesättigten NaCl-Lösung hinzugesetzt. Die Flüssigkeit bleibt anfangs klar, erst nach einigen Minuten tritt eine weiße Trübung ein, die sich beim sanften Schütteln in weiße Flöckchen und Fäden verwandelt. Mikroskopisch: Fibrinfädchenwerk mit spärlich eingeschlossenen Körnchen.
- d₂. 1 Tropfen der Gerinnungsflüssigkeit und 1 Tropfen einer gesättigten NaCl-Lösung werden zu einem mikroskopischen Präparat vereinigt. Dunkelfeldbeobachtung: Anfangs außer wenigen Körnchen optisch leeres Feld. Nach ein paar Minuten wird das ganze Feld verschleiert. Wenn dann bald der Nebel aufzieht, bekommt man eine große Zahl von lichtschwachen Nädelchen und außerdem richtige außerordentlich feine, aber teilweise ziemlich lange Fädchen zu Gesicht.
 - e) Reagens: Gesättigte NaF-Lösung.
- e₁. 2 ccm der Gerinnungsflüssigkeit und 4 ccm einer gesättigten NaF-Lösung sofort Trübung, die sich beim sanften Schütteln in ein zusammenhängendes Gerinnselchen verwandelt. Mikroskopisch: Fibrinfädchenwerk.
- e₂. 1 Tropfen der Gerinnungsflüssigkeit + 2 Tropfen einer gesättigten NaF-Lösung. Mikroskopisches Präparat. Dunkelfelduntersuchung: Sofort Unmasse von besonders schön ausgebildeten Nädelchen. Keine Nebel.
- f) Der Rest der Gerinnungsflüssigkeit blieb in einem offenen Kölbehen stehen. Nach 2 Tagen ist die Flüssigkeit dickflüssig geworden, ohne daß sich eine Trübung vorfindet. Als ein Tropfen der Flüssigkeit mit einer weiten Pipette auf einen Objektträger gebracht wird, nimmt der Tropfen Halbkugelform

an. Das vorsichtige Auflegen eines Deckglases hat zur Folge, daß die Halbkugel um etwas abgeplattet wird, sich in eine Scheibe verwandelt, auf der das Deckglas liegen bleibt. Indem das Deckglas nunmehr angedrückt wird, breitet der Gallerttropfen sich gleichmäßig aus. Bei der mikro- und ultramikroskopischen Untersuchung des Präparates bekommt man den Eindruck, mit bandartigen Schollen in einem übrigen verschwommenen Gesichtsfelde zu tun zu haben. Nachdem das Deckglas einige Male hin und her geschoben worden ist, werden unscharfe Linien erkennbar. Richtige Fädchen oder gar Nädelchen gelangen nicht zur Beobachtung, weder im Hellnoch im Dunkelfelde. Es scheint hier also eine wirkliche Gallertmasse vorzuliegen. Hinzugefügt sei noch, daß die Gerinnungsflüssigkeit sich am dritten Tage in einen Gallertklumpen, der etwas trübe aussieht, verwandelt hatte.

Aus diesen Versuchen geht hervor:

Daß auch in ein künstliches Fibrinalkalihydrosol, das durch "Lösung" von einem "spontan" in NaF-Plasma gebildeten Gerinnsel in n/400 NaOH hergestellt worden ist, unter dem Einfluß verschiedener Reagenzien (Serum; NaH, PO,; gesättigte Neutralsalzlösungen wie NaCl, NaF; CaClo); Fibrinausscheidung auftritt in morphologisch grundsätzlich einheitlicher Weise. Und zwar dermaßen, daß in sämtlichen Fällen zunächst Elemente von Nadelform auftreten, während das Endresultat der Fibrinausscheidung bzw. Gelbildung das Entstehen eines Fibrinfädchenwerks ist. Umständen wird dabei eine vorübergehende Nebelbildung wahrgenommen, was übrigens gelegentlich meiner Erfahrung nach bei jeder Gerinnungsflüssigkeit und mit jedem Reagens vorkommen kann. Daß weiter in einem künstlichen Fibrinalkalihydrosol "spontan" Gelbildung ("Altern" der Sole) auftreten kann, indem in einem solchen Gel keine Nädelchen oder Fädchen nachzuweisen sind, so daß man zu der Annahme geneigt sein könnte, daß in diesem Sonderfall eine wahre Gallerte gebildet wird.

- 6. Gerinnungsflüssigkeiten:
- α) Kaliumoxalatplasma (Pferdeblut).

- β) Die Hammarstensche Gerinnungsflüssigkeit erster Instanz. Reagenzien: a) Serum; b) gesättigte NaCl-Lösung; c) gesättigte NaF-Lösung. In 1 Teil einer 10°/0 igen Kaliumoxalatlösung werden 9 Teile Pferdeblut aufgefangen, indem das Gemisch dann während einer Stunde zentrifugiert wird. Das abgehobene Plasma bleibt 3 Stunden an einem mäßig kühlen Orte stehen.
- α) Ein kleiner Teil des Plasmas wird zu den folgenden ultramikroskopischen Versuchen verwendet.
 - a) Reagens: Serum.

Von 1 Tropfen des Plasmas + 1 Tropfen Rinderblutserum wird ein mikroskopisches Präparat angefertigt. Dunkelfeldbild: Zunächst nur zahlreiche größere und kleinere "Körner". Nach etwa 7 Minuten erscheinen Nädelchen und bald darauf auch richtige feine Fädchen in einem trüben Gesichtsfeld.

- b) Reagens: gesättigte NaCl-Lösung.
- 1 Tropfen des Plasmas + 1 Tropfen einer gesättigten NaCl-Lösung. Mikroskopisches Präparat. Dunkelfeldbild: Trübes Feld, Unmasse von amorphen Körnern, zwischen denen nach kurzer Zeit Nädelchen und feine Fädchen sichtbar werden. Die Nädelchen sind zwar ausgesprochen spindelförmig, sie sind jedoch verhältnismäßig lichtschwach.
 - c) Reagens: gesättigte NaF-Lösung.
- 1 Tropfen des Plasmas + 2 Tropfen einer gesättigten NaF-Lösung. Mikroskopisches Präparat. Dunkelfeldbild wie bei b, nur sind die Nädelchen lichtstärker, sie weisen (wohl dadurch?) eine größere Ähnlichkeit mit Krystallen auf.
 - β) Herstellung der Gerinnungsflüssigkeit.

300 ccm des Oxalatplasmas werden mit 300 ccm einer gesättigten NaCl-Lösung versetzt. Sofort Trübung, die sich bald zu Flocken verstärkt. Weil die letzteren sich beim Rühren mit einem Glasstab nur unvollständig sammeln lassen, wird während 5 Minuten zentrifugiert. Die nunmehr zusammengeballten Massen werden mit zwei Glasstäben gegen die Wand der Zentrifugenröhren gedrückt, indem die Flüssigkeit abgegoßen wird. Die etwas klebrigen, fadenziehenden Massen werden gesammelt und in 400 ccm einer 40/0 igen NaCl-Lösung übertragen. Nach 2 Stunden (es wird während dieser Zeit einige Male mit einem Glasstäbehen zur Verteilung des Gels

410

gerührt) hat sich der größte Teil des Gels gelöst. Nunmehr wird filtriert. Mit dem Filtrat (A), das schwach gelb gefärbt, jedoch klar ist, werden die folgenden Versuche angestellt.

- a) Reagens: Serum.
- a₁. 1 Tropfen des Filtrats A + 1 Tropfen Pferdeserum. Mikroskopisches Präparat. Dunkelfeldbeobachtung: Mit Ausnahme weniger punktförmiger Körperchen leeres Feld. Merkwürdigerweise ändert sich das Bild im Laufe einer halben Stunde gar nicht: es ist keine Spur von Nädelchen oder Fädchen zu sehen¹). Dieser unerwartete Befund muß aller Wahrscheinlichkeit nach in der Weise erklärt werden, daß die Fibrinausscheidung von dem in der Flüssigkeit vorhandenen Salzgehalt verzögert worden ist. In diese Richtung zeigt ebenfalls das Resultat des folgenden Parallelversuchs.
- a. In 15 ccm der Lösung A werden 5 ccm Pferdeserum hinzugegeben in einem kleinen Kolben. Nach 2 Stunden ist makroskopisch keine Veränderung in der Flüssigkeit sichtbar. Am nächsten Tag (nach etwa 18 Stunden) die Probe nochmals besichtigend, stellt sich heraus, daß die Flüssigkeit sich in eine Gallerte verwandelt hat, von welcher der obere Teil durchsichtig und kaum gefärbt, der untere Teil etwas trübe und schwach gelb gefärbt ist. Indem das Kölbchen auf den Kopf gestellt wird, tritt die Gallertmasse teilweise aus der Öffnung hervor, indem einige Flüssigkeitstropfen wegfließen. Die Gallertmasse hängt dermaßen zusammen, daß sie nicht weiter aus der Öffnung des Kölbehens hervortritt, als der Kolben auf den Kopf gestellt bleibt; es tropfen nur einige weitere Flüssigkeitstropfen Es wird dann von dem aus der Öffnung herausragenden Teil der Gallerte ein kleines Stückchen mit einer Schere abgetrennt und auf einen Objektträger gebracht. vorsichtig aufgelegten Deckglas wird das Gallertklümpchen nur etwas abgeplattet. Als dann das Deckglas angedrückt wird, tritt Flüssigkeit aus den Rändern hervor. Bei der Dunkelfeldbesichtigung dieses Präparats beobachtete man folgendes: einigen Stellen sind Fädchennetze und Bündel vorhanden; an anderen sieht man in einem nebligen verschwommenen Felde nur Linien, und an wieder anderen Stellen weißglänzende,

¹⁾ Als das Präparat nach 4 Stunden aufs neue untersucht wird, ist es mit Nädelchen verschiedener Größe durchsetzt.

scheinbar homogene längliche Bänder, bzw. "Schollen". Nachdem das Deckglas unter stärkerem Andrücken einige Male hin und her geschoben worden ist, hat sich das mikroskopische Bild verändert. Man sieht bei der Dunkelfeldbeobachtung jetzt nur weißglänzende dichte Fädchennetze und namentlich Fädchenbündel, in denen sich die einzelnen äußerst feinen, aber ziemlich langen Fädchen deutlich unterscheiden lassen. Offenbar sind diese Fädchennetze und Bündel aus den sich vorher verschwommen ausnehmenden Massen und den Schollen hervorgegangen, dermaßen, daß sie vorher auch schon als Fädchen vorhanden, aber darin nicht zu erkennen waren, weil sie mit der Flüssigkeit eine scheinbar homogene Masse darstellten. Wie sehr man bei einer oberflächlichen Betrachtung auch den Eindruck bekommen könnte, mit einer "echten" Gallerte zu tun zu haben, lag hier doch offenbar nur ein äußerst dichtes Fibrinfädchenwerk mit eingeschlossener Flüssigkeit, also eine scheinbare Gallerte, vor. Daß dem so war, konnte in der folgenden Weise bestätigt werden. Es wurde durch Klopfen mit der flachen Hand auf den Boden des auf den Kopf gestellten Kolbens die Gallertmasse in eine Schale ausgeschüttet. Sie fiel dabei in Gallertklumpen auseinander, unter Freiwerden von Flüssigkeit. Indem dann die Klumpen mit einem Spatel tüchtig bearbeitet und wiederholt gegen die Wand der Schale ausgepreßt wurden, trat eine größere Menge Flüssigkeit aus, indem die Gallertklumpen sich in etwas gallertig aussehende Häute verwandelten. Einige der Häute wurden mit einer Pinzette aus der Flüssigkeit entfernt und in destilliertem Wasser tüchtig gewaschen, nach welcher Prozedur sie sich als weiße dünne Häutchen mit hinausragenden Fäserchen ausnahmen. Nach tüchtiger Nadelpräparation ergab sich bei der mikroskopischen Beobachtung, daß die Häutchen aus einem stark verfilzten typischen Fibrinfädchenwerk mit zahlreichen eingelagerten Körnchen zusammengesetzt waren.

- b) Reagens: Gesättigte NaCl-Lösung.
- 1 Tropfen der Lösung A + 1 Tropfen einer gesättigten NaCl-Lösung.

Mikroskopisches Präparat. Bei der sofortigen Dunkelfeldbeobachtung: Zahlreiche spindelförmige lichtschwache Nädelchen, außerdem richtige Fädchen und viel amorphe Körnchen.

- c) Reagens: Gesättigte NaF-Lösung.
- 1 Tropfen der Lösung A + 2 Tropfen einer gesättigten NaF-Lösung.

Dunkelfeldbild: Schön ausgebildete, ziemlich lichtstarke Nädelchen, daneben vereinzelte richtige Fädchen und verhältnismäßig wenig amorphe Körnchen.

Aus dieser Versuchsreihe geht hervor:

Daß auch im Oxalatplasma sowie in der Hammarstenschen Gerinnungsflüssigkeit erster Instanz die Fibrinausscheidung unter dem Einfluß von Serum, gesättigter NaCl- und NaF-Lösung zunächst in Form von länglichen Ultramikronen bzw. nadelförmigen Elementen vor sich geht; daß weiter die Fibrinausscheidung unter Serumeinfluß von einem niedrigen Kochsalzgehalt der Gerinnungsflüssigkeit verzögert wird.

- 7. Gerinnungsflüssigkeit: die Hammarstensche Gerinnungsflüssigkeit zweiter Instanz.
 - α) "Spontane" Gelbildung.
- β) Reagens: a) Serum; b) das Schmidtsche Reagens; c) gesättigte NaF-Lösung.

Herstellung der Gerinnungsflüssigkeit:

Pferdeblut wird aufgefangen in einem gleichen Teil einer 1º/aigen NaF-Lösung und das Gemisch zentrifugiert. Das abgehobene Plasma wird während einiger Stunden an mäßig kühlem Orte aufbewahrt, nach welcher Zeit es noch ganz klar Dann werden 100 ccm des Plasmas mit 100 ccm einer gesättigten Kochsalzlösung versetzt. Sofort Trübung, die sich im Laufe einiger Minuten verstärkt. Beim nunmehrigen Herumdrehen des Zylinderglases um seine Längsachse bildet sich eine aus rauh aussehenden Fäden bestehende Wulst aus. dann vorsichtig geschüttelt wird, sammelt sich ein etwas gallertig aussehendes Fäden-Flockengewebe in den oberen Schichten der Flüssigkeit an. Es bleiben dabei zunächst grobe, von der zerfallenen Wulst herkommende Flocken in der Flüssigkeit schwimmen; diese steigen jedoch nachher ebenfalls zum größten Teil nach der Flüssigkeitsoberfläche. Die Gelmasse wird mit zwei Glasstäben tunlichst gegen die Wand des Behälters gedrückt, indem die Flüssigkeit abgegossen und durch 100 ccm Aq. dest. ersetzt wird. Mit einem Glasstabe läßt sich die Gelmasse in dem Wasser ziemlich fein verteilen. Nach $^{1}/_{4}$ Stunde schon liegt eine nur noch etwas opalisierende Flüssigkeit vor. Nunmehr wird filtriert: das Filtrat zeigt eine geringe Opalescenz. Zu 75 ccm des Filtrats werden 75 ccm einer gesättigten NaCl-Lösung hinzugesetzt. Fast sofort starke Trübung. Beim Herumdrehen des Zylinderglases um seine Längsachse bildet sich ein blasenförmig aussehendes Gel aus, das sich um einen Glasstab wickeln und fast restlos entfernen läßt. Das Gel wird in 75 ccm Aq. dest. übertragen, in dem es sich im Laufe einer $^{1}/_{2}$ Stunde zu einer fast klaren Flüssigkeit, in der allerdings noch einige feine Flöckchen schwimmen, löst. Beim Filtrieren durch einen Doppelfilter wird ein ganz klares Filtrat (A) erhalten.

- α) "Spontane" Gelbildung.
- α_1 . Die Hälfte des Filtrats A wird mit einer gleichen Menge Aq. dest. verdünnt und dann sich selbst überlassen. Am nächsten Tage wird die Flüssigkeit von einem feinen Fadenwerk ganz durchwebt gefunden. Mikroskopisch: typische Fibrinfädchen.
- α_2 . Die zweite Hälfte des Filtrats A wird als solches sich selbst überlassen. Am nächsten Tage schwimmt eine blasenförmige Haut in der Flüssigkeit, die sich um einen Glasstab wickeln und in einem Zuge entfernen läßt¹). Nach der Entfernung des Gels wird die zurückbleibende Flüssigkeit filtriert (Filtrat B).
- β) Mit dem Filtrat B (das also eine Hammarstensche Gerinnungsflüssigkeit zweiter Instanz darstellt, in der vorher "spontan" ein Teil des Fibrins zur Ausscheidung gelangt war) werden die folgenden Versuche angestellt.
 - a) Reagens: Serum.
- a₁. 4 ccm des Filtrats B werden mit 2 ccm Serum versetzt. Das Gemisch bleibt zunächst klar; nach ¹/₂ Stunde ist

¹) Ein kleiner Teil des Gels wird mit Präpariernadeln auf einem Objektträger bearbeitet, indem dann ein Deckglas aufgelegt wird. An einigen Stellen sieht man bei der Dunkelfeldbeobachtung oft sehr lange Fibrinfädchen zwischen etwas verschwommen aussehenden, weiß glänzenden Massen ausgestreckt. Das Gel wird in ²/500-NaOH übertragen, in dem es sich nach 24 Stunden unverständlicherweise nicht gelöst hat.

eine leichte Trübung vorhanden. Die Probe wird beiseite gestellt und erst nach 3 Stunden wieder besichtigt: Es hat sich eine gleichmäßig aussehende Gallerte ausgebildet. Beim starken Schütteln fällt die Gallerte in Klümpchen auseinander, die in der freigewordenen Flüssigkeit schwimmen. Mikroskopisch: Schollen. Bei der mikroskopischen Beobachtung nach Nadelpräparation: typisches Fibrinfädchenwerk.

- a₂. 1 Tropfen Filtrat B + 1 Tropfen Serum. Mikroskopisches Präparat. Nach etwa 20 Minuten treten "längliche Punkte" und feine lichtschwache Nädelchen auf. Dann wird das Gesichtsfeld verschleiert. Der Nebel bleibt während mehrerer Minuten bestehen, dann verschwindet er an einer Stelle nach der anderen, und zu gleicher Zeit werden in dem nunmehr wieder dunklen Felde eine Unmasse von nadel- und fädchenförmigen Elementen sichtbar.
 - b) Reagens: das Schmidtsche Reagens.
- b₁. 4 ccm des Filtrats B + 2 ccm des Schmidtschen Reagens. Schon nach 15 Minuten durchsichtige Gallerte; das Röhrchen kann auf den Kopf gestellt werden. Beim Schütteln gallertige Klümpchen bzw. "Flocken", die in der Flüssigkeit schwimmen. Mikroskopisch: Bänder und Schollen. Nach Nadelpräparation: typisches Fibrinfädchenwerk.
- b_2 . 1 Tropfen Filtrat B+1 Tropfen Reagens von Schmidt. Mikroskopisches Präparat. Schon nach 10 Minuten erscheinen unscharfe Nädelchen in einem etwas trüben Felde.
 - c) Reagens: Gesättigte NaF-Lösung.
- c₁. 4 ccm des Filtrats B + 8 ccm gesättigte NaF-Lösung. Nach etwa 5 Minuten Trübung, die beim vorsichtigen Schütteln in ein zusammenhängendes, fadenziehendes Gel übergeht. Mikroskopisch: typisches Fibrinfädchenwerk.
- c_2 . 1 Tropfen Filtrat B + 2 Tropfen gesättigte NaF-Lösung. Mikroskopisches Präparat. Dunkelfeldbild: Nach 3 Minuten zahlreiche verhältnismäßig scharfe Nädelchen in einem sonst dunklen Felde.

Es ergibt sich also:

Daß in einer Hammarstenschen Gerinnungsflüssigkeit zweiter Instanz unter Umständen "spontan" Gelbildung auftreten kann, indem einem solchen Gel ein Fibrinfädchenwerk zugrunde liegt; daß dabei nicht alles Fibrin auf einmal zur Ausscheidung gelangt, sondern daß eine teilweise, "fraktionierte" Gelbildung, in ähnlicher Weise wie das bei Fluoridplasma die Regel ist, stattfindet; daß sich in einer solchen Gerinnungsflüssigkeit, in der "spontan" Gelbildung aufgetreten ist, nachträglich aufs neue Fibrinausscheidung erzeugen läßt, u. a. unter dem Einfluß von Serum, dem Schmidtschen Reagens und gesättigter NaF-Lösung; daß schließlich auch in diesem Falle das Fibrin zunächst in Form von nadelförmigen Elementen ausgeschieden wird, indem das Endresultat der Gelbildung auch hier die Bildung eines Fädchenwerks ist.

8. Gerinnungsflüssigkeit: Künstliches Fibrinalkalihydrosol, und zwar eine Lösung von einem in der Hammarstenschen Gerinnungsflüssigkeit erster Instanz "spontan" gebildeten Gel in $^{n}/_{400}$ NaOH.

Reagens: Serum.

Herstellung der Gerinnungsflüssigkeit:

160 ccm Pferdeblut werden aufgefangen in 40 ccm einer gesättigten MgSO₄-Lösung. Das durch 1 stündiges Zentrifugieren erhaltene Plasma bleibt während 24 Stunden an einem mäßig kühlen Orte stehen. Nach dieser Zeit wird das Plasma mit einem gleichen Teile einer gesättigten NaCl-Lösung versetzt, wobei sofort eine feinflockige Trübung entsteht. Nach einigen Minuten mit einem Glasstabe rührend, wickelt sich der größte Teil des flockigen Niederschlags in Gestalt einer etwas gallertig aussehenden, fadenziehenden Masse um den Stab herum. Das Gel wird in eine 40/0 ige NaCl-Lösung übertragen. Nach 4 Stunden ist noch immer ein kleiner Rest ungelöst vorhanden. Nichtsdestoweniger wird jetzt filtriert; das Filtrat bleibt wegen Zeitmangels und in der Absicht, es nachher weiter zu verarbeiten, stehen. Am nächsten Tage findet sich jedoch in der Flüssigkeit eine "spontan" gebildete Gelmasse vor. Auf dem Boden des Glasgefäßes und in den oberen Schichten der Flüssigkeit ist eine Flockenmasse vorhanden, während sich zwischen dieser eine große Anzahl von etwas rauh aussehenden, groben Fäden erstreckt (beschneiter Miniaturwald). Die Probe wird dann noch weiter ruhig sich selbst überlassen, und nach weiteren 2 × 24 Stunden haben die Flocken-

massen sich in Häute verwandelt, während der Fädchenwald noch dichter geworden ist. Die zusammenhängende Gelmasse läßt sich fast restlos bei vorsichtiger Manipulation mit zwei Glasstäben entfernen¹). Die Gelmasse wird in Aq. dest. übertragen, in dem sie sich nach 24 Stunden noch fast unverändert vorfindet. Nach weiteren 24 Stunden ist ebensowenig eine bedeutende Lösung eingetreten; indem nunmehr sanft geschüttelt wird, nimmt die Gelmasse die Form von groben, in dem Wasser schwimmenden Häuten an. Die Flüssigkeit wird nunmehr abgegossen und von einer $^{n}/_{400}$ -NaOH-Lösung ersetzt. Nach 6 Stunden hat sich die Masse insoweit "gelöst", daß nunmehr eine schwach trübe Flüssigkeit, eine Suspension vorliegt. Beim Filtrieren durch ein Doppelfilter wird ein ganz klares Filtrat erhalten. Mit diesem Filtrat werden dann die folgenden Versuche angestellt.

- a) Reagens: Serum.
- a₁. 2 ccm des Filtrats + 1 ccm Pferdeserum. Nach 20 Minuten Trübung, nach 1 Stunde ist die Flüssigkeit von einem äußerst zarten Fadenwerk durchwebt. Mit einer Pinzette wird ein Stückchen des Fadenwerks aus der Flüssigkeit genommen und zu der Herstellung eines mikroskopischen Präparates, unter Nadelpräparation, verwendet. Dunkelfeldbild: typisches Fibrinfädchenwerk.

Am nächsten Tage hat sich eine Gallerte ausgebildet (es ist also eine weitere Fibrinausscheidung eingetreten: "fraktionierte Gerinnung" unter Serumeinfluß), welcher Gallerte laut der mikroskopischen Untersuchung ein äußerst dichtes, stark verfilztes Fibrinfädchenwerk mit zahlreichen eingeschlossenen Körnern zugrunde liegt.

 a_2 . Von 1 Tropfen des Filtrats + 1 Tropfen Pferdeserum wird ein mikroskopisches Präparat angefertigt. Dunkelfeldbild:

¹⁾ Das ist keineswegs immer der Fall bei dergleichen "spontan" in der Hammarstenschen Gerinnungsflüssigkeit erster und zweiter (und gelegentlich dritter) Instanz auftretenden Gelen. Öfters fallen solche Gele beim Berühren mit einem Glasstabe auseinander. Übrigens sei bemerkt, daß sich bei schr stark konzentrierten Hammarstenschen "Lösungen" unter Umständen auch eine gleichmäßig aussehende Gallerte ausbildet, welches Vorkommnis ich namentlich auch in solchen Fällen beobachtet habe, wo Oxalatplasma als Ausgangsmaterial verwendet worden war.

Anfangs nur in Brownscher Bewegung sich befindende punktförmige Körperchen. Nach etwa 15 Minuten wird das Gesichtsfeld ziemlich plötzlich verschleiert. Der Nebel verschwindet
dann nach einiger Zeit ebenso plötzlich, indem nunmehr eine
Unmasse von lichtschwachen Nädelchen und Fädchen sichtbar
wird.

Es ergibt sich also:

Daß in einer nach dem Hammarstenschen Verfahren hergestellten Gerinnungsflüssigkeit erster Instanz unter Umständen "spontan" Gelbildung bzw. Fibrinausscheidung eintreten kann; daß ein solches Gelnicht von Wasser (bzw. schwacher Salzlösung), dageen von äußerst verdünntem Alkali wieder in den Solzustand zurückversetzt werden kann; daß sich in einem dergleichen künstlichen Fibrinalkalihydrosol u. a. durch Serum Fibrinausscheidung, und zwar zunächst in der Form von nadelförmigen Elementen, erzeugen läßt.

9. Gerinnungsflüssigkeit: Die Hammarstensche Gerinnungsflüssigkeit dritter Instanz.

Reagenzien: a) Serum; b) das Schmidtsche Reagens; c) CaCl₂-Lösung; d) das Schmidtsche Reagens + CaCl₂-Lösung; e) gesättigte NaF-Lösung; f) gesättigte NaCl-Lösung.

Herstellung der Gerinnungsflüssigkeit:

9 Teile Pferdeblut werden aufgefangen in einem Teil einer $10^{\,0}/_0$ igen Kaliumoxalatlösung. Das Gemisch wird während einer Stunde zentrifugiert und das Plasma abgehoben. 400 ccm des Plasmas werden mit 400 ccm einer gesättigten NaCl-Lösung versetzt. Bald Trübung, nach 10 Minuten feinflockiger Niederschlag. Beim vorsichtigen Rühren mit einem Glasstabe geht der Niederschlag in eine ausgiebige, etwas gallertig aussehende, fadenziehende Gelmasse über, die sich um den Stab wickeln und entfernen läßt; allerdings bleiben dabei spärliche Flocken in der Flüssigkeit zurück. Das Gel wird in 300 ccm einer $6^{\,0}/_0$ igen NaCl-Lösung übertragen und darin etwas verteilt. Nach 2 Stunden hat sich das Gel mit Ausnahme einiger Flocken gelöst. Beim Filtrieren wird eine etwas gelbliche, doch klare Flüssigkeit erhalten.

250 ccm dieses Filtrates werden mit 250 ccm einer gesättigten NaCl-Lösung versetzt. Sofort Trübung ¹), die sich in einigen Minuten zu einem flockigen Niederschlag verstärkt. Beim Rühren mit einem Glasstabe wickelt sich um diesen ein fadenziehendes Gel herum, indem dabei verhältnismäßig viel Flocken ²) und Faden in der Flüssigkeit zurückbleiben. Das Gel wird in 150 ccm einer 4 ⁰/₀igen NaCl-Lösung übertragen. Nach einer Stunde ist der größte Teil des Gels in Lösung gegangen, es schwimmen noch Flöckchen (die an den Rändern durchsichtig geworden sind), jedoch keine Faden mehr in der Flüssigkeit. Es wird nunmehr durch einen Doppelfilter filtriert: das Filtrat ist klar.

Zu 100 ccm dieses Filtrats werden 100 ccm einer gesättigten NaCl-Lösung hinzugesetzt. Erst nach etwa 10 Minuten tritt eine makroskopisch deutlich wahrnehmbare Trübung ein 3), die sich im Laufe weiterer 10 Minuten zu einem feinflockigen Niederschlag verstärkt. Beim Rühren mit einem Glasstab läßt sich nur ein kleiner Teil des Niederschlags um den Stab wickeln. Deshalb wird, um kein Material mehr zu verlieren, während 5 Minuten zentrifugiert. Der Niederschlag hat sich dabei teilweise auf dem Boden, teilweise an der Wand der Zentrifugenröhre abgesetzt, teilweise schwimmt er in der Form einer zusammenhängenden Masse an der Oberflächenseite der Flüssigkeit. Von dem Bodensatz ragen kürzere und längere Fäden in die Flüssigkeit hinaus, indem jeder Faden an seinem freien Ende ein Luftbläschen trägt. Die Faden sind gewissermaßen zwischen dem Bodensatz und den Luftbläschen ausgespannt. Beim sanften Bewegen der Zentrifugenröhren bewegen sich die Faden hin und her, beim sanften Schütteln steigen die meisten der Luftbläschen in die Höhe, während die Faden zusammenfallen. Indem die an der Oberfläche schwimmende Gelmasse

¹) Es wird mit der größten Vorsicht ein mikroskopisches Präparat von der trüben Flüssigkeit hergestellt. Die ultramikroskopische Beobachtung ergibt das Vorhandensein einer Unmasse von lichtschwachen Nädelchen inmitten von amorphen Körnersubstanzen.

²) In diesen Flocken und Faden lassen sich bei der ultramikroskopischen Untersuchung keine Nädelchen, im Gegenteil nur Fädehen (und sehr viel amorphe Körner) nachweisen.

³⁾ Diese Trübung wird, wie die ultramikroskopische Untersuchung ausweist, von nadelförmigen Elementen und amorphen Körnern (d. h. wohl anderweitigen Eiweißsubstanzen: Globulinen usw.) verursacht.

mit einem Spatel zurückgehalten wird, wird die Flüssigkeit abgegossen. Der Bodensatz und die an der Wand haftende Gelmasse bleiben dabei an Ort und Stelle; sie sind offenbar am Glasrande angeklebt. Diese Manipulation wird in allen 4 Zentrifugenröhren wiederholt. Dann wird in eine der Röhren 75 ccm Aq. dest. gegossen; der Bodensatz löst sich dabei vom Glasrand ab, der Wandbesatz muß jedoch mit einem feinen Spatel von der Glaswand gelöst werden. Indem nunmehr mit dem feinen Spatel gerührt wird, wickelt sämtliches Material sich fast restlos um den Spatel herum 1). Das in dieser Weise gesammelte Material wird nun mitsamt der Flüssigkeit in ein zweites Zentrifugenrohr gegossen, dann in das dritte und schließlich in das vierte, indem die erwähnten Manipulationen dabei jeweils wiederholt werden. Die gesamte Ausbeute an Material findet sich also in etwa 75 ccm Aq. dest. vor. Unter wiederholtem Rühren hat sich nach etwa 1 Stunde der größte Teil der Gelmasse gelöst.

Jetzt wird durch ein Doppelfilter filtriert; das Filtrat (die Hammarstensche Gerinnungsflüssigkeit dritter Instanz also) stellt eine klare Flüssigkeit dar, die sich bei der ultramikroskopischen Untersuchung praktisch optisch leer zeigt²). Mit dieser Gerinnungsflüssigkeit wurden ein Anzahl Versuche angestellt, die ich der Kürze wegen in Tabellenform zusammenstelle.

	Hammarsten- sche Gerinnungs-	Doggong	Resultate				
	flüssigkeit dritter Instanz	1400gcn6	nach 3 Minuten	nach 1 Stunde			
8,	3 ccm	1 ccm Serum	keine Veränderung	zitternde Gallerte			
$\mathbf{b_1}$	3 ,	1 " Reagens von Schmidt	n n	, ,			
C,	3 "	0,250 ccm 5% ige CaCl ₂ -Lösung	ת ת	keine Veränderung			
d,	3 "	1 ccm Reagens von Schmidt + 0,250 ccm 5% ige CaCl ₂ -Lös.	מ ח	zitternde Gallerte			
e,	3 "	6 ccm gesättigte NaF-Lösung	leichte Trübung	von Fäden durchwebt			
$\tilde{f_1}$	3 "	3 n gesättigte NaCl-Lösung	keine Veränderung	Flocken-Fadenmasse			

a) Reagensglasversuche.

¹⁾ Mit der Schere wird ein winziger Teil des Gels abgeschnitten und auf einem Objektträger mit Präpariernadeln zerzupft. Die mikroskopische Untersuchung erweist, daß dem Gel ein typisches Fibrinfädchenwerk mit zahlreichen eingeschlossenen, bzw. den Fädchen aufsitzenden, amorphen Körnern zugrunde liegt.

²) So glatt wie in dem vorliegenden Fall verläuft die Herstellung der Hammarstenschen Gerinnungsflüssigkeit dritter Instanz meiner Erfahrung nach nur ausnahmsweise. Die Versuche, eine klare, zugleich nicht allzu niedrig konzentrierte Flüssigkeit herzustellen, sind mir besonders oft mißlungen.

Bemerkung ad a₁; b₁; d₁: Die zitternden Gallerten fallen beim starken Schütteln in gallertig aussehende Häute und Fasern auseinander. In sämtlichen Fällen liegt diesen Gelen laut den mikroskopischen Untersuchungen ein typisches Fibrinfädchenwerk zugrunde.

ad c1: Recht bemerkenswert ist, daß von CaCl, keine Veränderung

in der Flüssigkeit hervorgerufen wird.

ad e₁: Die Flüssigkeit war nach 1 Stunde von einem schönen Fadenwerk durchwebt. Beim Schütteln ballt sich das Fadenwerk zu einem Knäuel zusammen. Mikroskopisch: typisches Fibrinfädehenwerk.

ad f₁: Den Flocken liegt, wie sich bei der mikroskopischen Untersuchung herausstellt, ein typisches Fibrinfädchenwerk zugrunde.

	sche	m m a r s t e n - Gerinnungs- sigkeit dritter	Resgens		Dunkelfeldbeol	
		Instanz		3 Minuten	10 Minuten	1 Stunde
ag	1	Tropfen	1 Tropfen Serum	optisch leeres Feld	lichtschwache Nädelchen	nadel- u. fäd- chenförmige Elemente
b,	1	n	1 Tropf. Reagens v. Schmidt	do.	do.	do.
O _B	1	n	möglichst kleines Tröpfchen 5%, ige CaClLösung	do.	optisch leeres Feld	optisch leeres Feld
d,	1	n	1 Tropf. Reagens v. Schmidt + möglichst kleines Tröpf- chen 5% ige CaCl ₂ -Lösung	do.	lichtschwache Nädelchen	nadel- u. fäd- chenförmige Elemente
6 9	1	n	2 Tropfen gesätt. NaF-Lösung	vereinzelte Nädelchen	do.	do.
fg	1	n	1 Tropfen gesätt. NaCl-Lösung	optisch leeres Feld	do.	do.

β) Objekt-Deckglasversuche.

Aus dieser Versuchsreihe geht hervor:

Daß unter dem Einfluß von Serum, dem Reagens von Schmidt, gesättigten Neutralsalzlösungen (NaF, NaCl) in einer Hammarstenschen Gerinnungsflüssigkeit dritter Instanz Fibrinausscheidung erzeugt werden kann, die sich zunächst in dem Erscheinen von verhältnismäßig lichtschwachen, unscharfen Nädelchen kundgibt;

Daß von einer CaCl₂-Lösung allein in dieser Flüssigkeit keine Fibrinausscheidung hervorgerufen wurde.

10. Gerinnungsflüssigkeit: Künstliches Fibrinalkalihydrosol, und zwar: Lösung von einem durch das Schmidtsche Reagens in der Hammarstenschen Gerinnungsflüssigkeit 3. Instanz erzeugten Gel, in ⁿ/₅₀₀-NaOH. Reagenzien: a) Serum; b) das Reagens von Schmidt; c) CaCl₂-Lösung; d) Reagenz von Schmidt + CaCl₂-Lösung; e) gesättigte NaCl-Lösung; f) gesättigte NaF-Lösung; g) NaH₂PO₄-Lösung.

Herstellung der Gerinnungsflüssigkeit: Es wird, ausgehend von Kaliumoxalat-Pferdeblutplasma eine Hammarstensche Gerinnungsflüssigkeit 3. Instanz hergestellt. 90 ccm dieser Flüssigkeit werden mit 30 ccm des Schmidtschen Reagens (d. h. also ohne Hinzufügung von CaCl₂) versetzt. Nach 4 Stunden liegt eine zitternde Gallerte vor. Beim Schütteln zerfällt die scheinbare Gallerte in Klumpen, die dann das Aussehen von Häuten und Fasern annehmen, die in der freigewordenen Die Häute-Fasermasse wird durch Flüssigkeit schwimmen. kurzes Zentrifugieren gesammelt, in Aq. dest. gewaschen, aufs neue gesammelt und schließlich in 100 ccm n/500-NaOH übertragen. Die Fäserchen werden sofort durchsichtig und lösen sich schnell; die Häutchen werden erst allmählich durchsichtig, indem sie aufquellen. Nach einer halben Stunde hat sich die Masse zu einer klaren Flüssigkeit, die filtriert wird, gelöst. Die Filtration geht anfangs schnell vor sich, dann langsamer. Das Filtrat zeigt sich bei der ultramikroskopischen Untersuchung optisch leer. Mit diesem Filtrat (A) bzw. diesem künstlichen Fibrinalkalihydrosol werden die untenstehenden Versuche angestellt.

u, lougonbgiabiolisacho.	α	Rea	gensg	lasversucl	hе.
--------------------------	----------	-----	-------	------------	-----

			nnungs ssigkeit	•	Reagens
8,1 b,1 c,1	3	n	Filtrat	n	1 ccm Pferdeserum 1 n Reagens von Schmidt
d ₁	3	n	n	n	0,250 ccm 5°/ ₀ ige CaCl ₂ ·Lösung 1 ccm Reagens von Schmidt + 0,250 ccm 5°/ ₀ ige CaCl ₂ ·Lösung
e ₁ f ₁	3	n n	n n	n n	3 ccm gesättigte NaCl-Lösung 6 n gesättigte NaF-Lösung
g ₁	3	n	n	77	Tropfen 2% ige NaH, PO,-Lösung

Resultat: In c_1 , d_1 , f_1 und g_1 tritt fast sofort Trübung ein, in a_1 und e_1 erst nach einigen Minuten. In sämtlichen Fällen geht die Trübung beim vorsichtigen Schütteln in ein fadenziehendes Gerinnselchen (nur bei der Probe e_1 bilden sich dabei wenig zusammenhängende Flocken und Faden aus) über, also auch in c_1 . In allen Fällen mikroskopisch: typisches Fibrinfädchennetz.

b₁ bleibt scheinbar ungetrübt; als die Probe nach 10 Minuten gegen Kunstlicht besichtigt wird, scheint doch eine leichte

Trübung vorhanden zu sein. Beim vorsichtigen Schütteln bildet sich ein glasig-durchsichtiges Gerinnselchen aus, das sich beim starken Schütteln in ein weißes gallertartiges Gerinnselchen verwandelt. Das Gerinnselchen wird mit einer Pinzette entfernt und in $^{n}/_{500}$ -NaOH übertragen, in dem es sich erst nach 1 Stunde löst. Zu 3 ccm dieser filtrierten Lösung wird 1 ccm des Schmidtschen Reagens hinzugesetzt. Nach 25 Minuten hat sich ein glasig-gallertiges Gerinnselchen ausgebildet.

	Gerinnungs- flüssigkeit			Reagens	Resultat bei Dunkelfeld- beobachtung nach		
					5 Minuten	1/2 Stunde	
8.9	1	Trpf.	Filtra	t A	1 Tropfen Pferdeserum	Krystallähnliche Nädelchen	
$\mathbf{b_2}$	1	n	77	n	1 " Reagens von Schmidt	Krystallähnliche Nädelchen	
o ₂	1	n	n	n	möglichst kleiner Tropfen 5 º/0 iger CaCl2- Lösung	Unscharfe Nädelchen	Sämtliche Präparate
dg	1	n	n	n	4	Krystallähnliche Nädelchen	sind von nadel- und fädchenför-
e ₂	1	n	n	n	1 Tropfen gesättigte NaCl-Lösung	Unscharfe Nädelchen	migen Ele- menten
fg	1	n	n	n	2 Tropfen gesättigte NaF-Lösung	Krystallähnliche Nädelchen	durchsetzt.
g_2	1	n	77	n	Möglichst kleiner Tropfen 2º/0 iger NaH2PO4-Lösung	Krystallähnliche Nädelehen	

Bemerkung: Die Versuche sind der Kürze wegen in Tabellenform zusammengestellt. Tatsächlich wurde naturgemäß das eine Präparat nach dem andern hergestellt und der Beobachtung unterworfen. Die Aufbauerscheinungen: das An- und Gegeneinanderreihen der Nädelchen der Länge nach ließ sich in sämtlichen Präparaten recht klar verfolgen; in keinem der Präparate trat Nebelbildung ein. — Daß die Fibrinausscheidung hier schnell eintrat, muß zweifellos auf den Umstand zurückgeführt werden, daß ein verhältnismäßig stark konzentriertes Fibrinalkalihydrosol vorlag.

Es geht aus diesen Versuchsreihen hervor:

Daß in einem Fibrinalkalihydrosol, das in der Weise hergestellt worden ist, daß unter dem Einfluß des Schmidtschen Reagens in der Hammarstenschen Gerinnungsflüssigkeit 3. Instanz zur Ausscheidung gelangte Fibrin in $^{n}/_{500}$ -NaOH gelöst worden ist, Fibrinausscheidung hervorgerufen werden kann unter dem

Einfluß verschiedener Reagenzien (Serum, das Schmidtsche Reagens, gesättigte Neutralsalzlösungen, saure Salzlösungen und auch von CaCl₂);

daß die Fibrinausscheidung in sämtlichen Fällen laut der Versuchsreihe β stattfinden kann in Form von nadelförmigen Elementen;

daß das Endresultat der Fibrinausscheidung bzw. Gelbildung in sämtlichen Fällen die Bildung eines richtigen Fädchenwerkes ist.

Zusammenfassung und Schlußfolgerungen.

Überblicken wir das vorgebrachte Tatsachenmaterial, so sei zunächst hervorgehoben, daß die von Schimmelbusch entdeckte Tatsache, daß das Fibrin im gerinnenden Blute in Form von krystallähnlichen Nädelchen erscheinen kann und daß letztere durch eine An-(und Gegen-)einanderreihung der Länge nach die Fibrinfädchen aufbauen können, voll und ganz bestätigt werden konnte.

Es ergab sich weiter, daß das eine und das andere ebenfalls zutrifft für die anscheinend spontane Fibrinausscheidung bzw. Gelbildung im Fluoridplasma, sowie für die unter dem Einfluß verschiedener Reagenzien (Blutserum, das Schmidtsche Reagens, Säure, starke Neutralsalzlösungen usw.) im fluorierten Säugetier- und Vogelblutplasma, in den nach Hammarsten hergestellten künstlichen Gerinnungsflüssigkeiten sowie in den künstlichen Fibrinalkalihydrosolen zu erzeugende Fibrinausscheidung bzw. Gelbildung.

Die Angabe von Schimmelbusch (später wiederholt von Stübel für Säugetierblut), daß das Fibrin stets in Form von krystallähnlichen Nädelchen zur Ausscheidung gelangen sollte, hat sich inzwischen als unrichtig erwiesen, womit naturgemäß die Grundlage, auf der die Krystallisationstheorie von Schimmelbusch aufgebaut und von Stübel gestützt worden ist, hinfällig wird.

Tatsache ist:

Daß die erste Andeutung der Fibrinausscheidung sich in der Regel kundgibt in Form von länglichen Ultramikronen, denen das Krystallähnliche abgeht; daß dann das Fibrin in Form von kleineren oder größeren krystallähnlichen Nädelchen erscheint, die entweder aus den mehrerwähnten Elementen durch Aufbau hervorgehen oder durch ein unnachspürliches "Wachsen" der letzteren oder der feineren Nädelchen entstehen, oder aber sofort als solche ausgeschieden werden:

daß schließlich aus diesen "Fibrinformelementen" die bekannten typischen Fibrinfädchen aufgebaut werden, indem die Fibrinfädchen außerdem unmittelbar als solche fix und fertig zur Ausscheidung gelangen können.

Damit sei keineswegs gesagt, daß die unmittelbar als solche ausgeschiedenen Fädchen nicht auch aus länglichen Ultramikronen und Mikronen aufgebaut seien. Wo wir unter unseren Augen die länglichen Ultramikronen sich zu Mikronen und letztere sich zu Fädchen aufbauen sehen, da liegt im Gegenteil, wie mir scheint, der Schluß auf der Hand, daß auch die fix und fertig zur Ausscheidung gelangenden Fibrinfädchen aus solchen "Fibrinformelementen" zusammengesetzt sein müssen. Die Verhältnisse dürften bei der Ausscheidung der Fibrinfädchen "in einem Guß" dermaßen liegen, daß die Ausscheidung der länglichen Ultramikronen und Mikronen und die Anordnung dieser "Fibrinformelemente" zu Fädchen zeitlich ineinandergreifen, so daß die Aufbauerscheinungen dem bewaffneten Auge entgehen.

Übrigens könnte man die Fibrinfädchen (die unter sich an Länge und Dicke nicht unwesentliche Differenzen aufweisen können, was nunmehr auf Grund ihrer Entwicklungsgeschichte ja auch ohne weiteres verständlich sein dürfte) sozusagen als die ausgebildete Grundform und die länglichen Ultramikronen und Mikronen (bzw. krystallähnlichen Nädelchen) als unausgebildete Entwicklungsstadien der Gelbildung bezeichnen. Treten dem Vorgang des Fädchenaufbaus in irgendeiner Weise, sei es durch Kunstgriffe oder auf natürlichem Wege, hindernde Bedingungen in den Weg, so bleibt die Gelbildung etwa auf einer unausgebildeten Entwicklungsstufe stehen, und man bekommt nadelförmige Elemente als Endresultat der Gelbildung bzw. "Gerinnung" zu Gesicht, wie das

gelegentlich ja auch im pathologischen Material der Fall ist.

In allen denjenigen Fällen, wo dem Fädchenaufbau bzw. der Ausscheidung keine hindernden Bedingungen im Wege sind. bilden sich Fädchen aus, wie aus meinen Versuchen zur Genüge hervorgehen dürfte. Von diesen ausgebildeten Grundformen der Gelbildung, den altbekannten typischen mikroskopisch feinen Fibrinfädchen, lassen sich nun alle sonstigen Formen, in denen das Fibrin unter physiologischen und pathologischen Umständen erscheinen kann, ableiten. Die Fibrinfädchen können sich zunächst, wie wir erfahren haben, in allerhand Weise (eventuell unter Einschließung von Flüssigkeit und festen Fremdsubstanzen) anordnen und zu der Bildung von spinnengewebeartigen Maschen und Netzen, von gröberen und feineren Fäden (die an sich wieder Maschen und Netze bilden können), von Fasern, Strängen, Bändern, Häuten bzw. Membranen, Röhren, Blasen, Schollen, Flocken, Gallerten bzw. Kuchen usw. Veranlassung geben, je nach den Umständen, unter denen die Fibrinausscheidung bzw. Gelbildung bzw. "Gerinnung" stattfindet. Alle diese morphologisch scheinbar verschiedenen "Gerinnungsformen" des Fibrins besitzen im Grunde dieselbe Struktur und Entwicklungsgeschichte. Sie sind, wie erwähnt, sämtlich aufgebaut aus einer Unmasse von länglichen Mikronen und Ultramikronen. Jedes Gelfibrin, in welcher Form es auch erscheinen mag, besitzt somit einen einheitlichen strukturellen Bau.

Nicht nur in Hinsicht auf die Entwicklungsgeschichte und die Struktur des Gels Fibrin gibt das vorgebrachte Tatsachenmaterial Aufschluß, sondern es sind ihm auch schon einige grundsätzlich wichtige Schußfolgerungen in Betreff der Natur des Fibringerinnungsvorgangs überhaupt zu entnehmen.

Denn es wird durch die ans Licht getretene Tatsache:

Daß die unter dem Einfluß von starken Neutralsalzlösungen, von Säuren und CaCl.-Lösungen in natürlichen und künstlichen Gerinnungsflüssigkeiten zu erzeugende Fibrinausscheidung bzw. Gelbildung physikalisch bzw. histologisch in ganz derselben Weise vor sich geht, wie die unter dem Einfluß von Blutserum Biochemische Zeitschrift Band 73.

28

und von dem Schmidtschen Reagens in jenen Flüssigkeiten herbeizuführende Fibrinauscheidung bzw. Gelbildung einesteils und wie die anscheinend spontane Fibrinausscheidung bzw. Gelbildung im Fluoridplasma und im nach Schimmelbusch oder Bürker flüssig erhaltenen Blutplasma andernteils, wie mir scheint, in entschiedener Weise die Richtigkeit der Auffassung bestätigt, zu der ich früher auf anderm Wege schon gelangte:

daß es sich in sämtlichen Fällen um die Ausscheidung eines und desselben präformiert vorhandenen Eiweißkörpers, eben des Fibrins, handelt;

daß das Fibrin bei der "Gerinnung" also nicht erst etwa aus einem andern Eiweißkörper gebildet wird, und

daß eine vermeintliche Fermentwirkung mit der Fibrin- bzw. Blutgerinnung nichts zu tun hat.

Weiter geht aus dem Umstande, daß das Fibrin in einem und demselben mikroskopischen Präparat nebeneinander in der Form von krystallähnlichen Nädelchen und richtigen Fädchen erscheinen kann (sei es, daß die Fädchen aus den ersteren Elementen durch Aufbau hervorgehen oder unmittelbar als solche ausgeschieden werden, was ebenfalls beides in demselben Präparat vorkommen kann), in unzweideutiger Weise hervor:

Daß es sich bei der Fibringerinnung nicht, wie Beneke es ausgedrückt hat, "um zwei verwandte, aber nicht ganz identische Vorgänge, je nachdem das Fibrin krystallinisch ausfällt oder in fädiger Form, den Gesetzen der Kolloidfällungen folgend, gerinne," handelt,

sondern daß im Gegenteil der Ausscheidung des Fibrins in krystallähnlicher Nadelform und Fädchenform ein einheitlicher Prozeß zugrunde liegen muß.

In Betreff der Frage, mit welchem Prozeß man dabei schließlich zu tun hat, gibt die mikroskopische Verfolgung der physikalischen bzw. histologischen Erscheinungen bei der Fibrinausscheidung bzw. Gelbildung keine entscheidende Auskunft, ebensowenig als andererseits die physiologisch-chemische Forschung allein sie zu geben vermocht hat bzw. vermag. Wir werden dieser Frage, die, wie ich schon an anderer Stelle 1) hervorgehoben habe, zu gleicher Zeit von einem mehr allgemein kolloid-physikalisch-chemischen Gesichtspunkte aus von grundsätzlicher Bedeutung erachtet werden muß, dann auch unter gleichzeitiger Berücksichtigung der physikalischen und der chemischen Verhältnisse näher zu treten zu versuchen haben.

¹⁾ Intern. Zeitschr. f. physik.-chem. Biol. 2, 279, 1915.

Über das Fibrin und seine Beziehung zu einigen Problemen der Biologie und Kolloidchemie.

(Mit besonderer Berücksichtigung der Blutgerinnungsfrage.)

Von

E. Hekma.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Groningen.)

(Eingegangen am 5. Januar 1916.)

VII.

Über die Ähnlichkeit des Fibrinausscheidungsvorgangs mit einem Krystallisationsprozeß einerseits und einem kolloidalen Ausfällungsprozeß andererseits, sowie über die Natur der Fibringerinnung überhaupt.

Wie in dem vorhergehenden Aufsatz schon erwähnt worden ist, ist von Schimmelbusch¹) auf Grund von mikroskopischen Beobachtungen betreffs des Gerinnungsvorgangs die Theorie aufgestellt worden, daß der Fibringerinnung ein Krystallisationsprozeß zugrunde liegen sollte. Es handelte sich dabei allerdings derzeit nicht um einen ganz neuen Gedanken. Denn Virchow²) hatte sich schon folgendermaßen geäußert:

"Man kann diese (d. h. die Entstehung feinster Fäserchen) mit der Krystallisation parallel stellen, als eine Art von organischer Krystallisation betrachten, wobei freilich jede einzelne Fibrille als ein Vielfaches kleiner Krystallkörper betrachtet werden müßte. Wie bei der Krystallisation, so ordnen sich die einzelnen Moleküle hier gleichfalls in gewissen Richtungen an und bilden feine Säulchen, an denen man freilich auch bei den stärksten Vergrößerungen keine charakteristische Fläche oder Winkel erkennen kann. In dem Maße, als die Anordnung fortschreitet, wird der Faserstoff direkt sichtbar und man kann jede kleinste Masse desselben

¹⁾ Virchows Archiv 101, 201, 1885.

³) Gesammelte Abhandlungen. 1856. II. Über den Faserstoff.

unter dem Mikroskop von den anderen Teilen des Objektes und von den Flüssigkeitsteilen unterscheiden."

Von Ranvier¹) war die Fibringerinnung mit dem Auskrystallisieren eines krystalloiden Körpers aus einer übersättigten Lösung verglichen worden, laut den Worten:

"Il est probable que les granulations anguleuses sont de petites masses de fibrine, et qu'elles sont des centres de coagulation, de la même façon qu'un cristal de sulfate de soude plongé dans une solution du même sel est le point de départ de la cristallisation."

Dieser Vergleich ist von Stübel³), unter Berücksichtigung der Tatsache, daß die Fibringerinnung besonders rasch an rauhen Oberflächen einzusetzen pflegt, in die folgende Form gegossen worden:

"Vor allem spricht eine schon längst bekannte Tatsache sehr für die Krystallisationsnatur der Fibrinbildung, nämlich die Erscheinung, daß die Fibrinbildung besonders rasch an rauhen Oberflächen, mit denen das Blutplasma in Berührung ist, einsetzt. Bei unvoreingenommener Beurteilung dieser Erscheinung wird man geradezu darauf geführt, die Gerinnung des Blutplasmas in Kontakt mit einer rauhen Oberfläche und das Auskrystallisieren irgendeines krystalloiden Körpers aus einer übersättigten Lösung, wie sie unter denselben Bedingungen eintreten würde, zu analogisieren."

Es muß sofort anerkannt werden, daß es sehr verführerisch wäre und bequem dazu, die Fibrinausscheidung mit einem Krystallisationsprozeß auf eine Linie zu stellen, wenn nicht andererseits gerade Tatsachen vorliegen würden, die ihrerseits vielmehr in die Richtung eines Vorgangs, den man als "kolloidalen Ausfällungsprozeß" zu bezeichnen gewöhnt ist, hinweisen würden.

Wir werden in diesem Aufsatz etwas näher auf diese Angelegenheiten einzugehen haben, indem sich dabei zugleich auch die Gelegenheit bieten wird, gewisse andere Fragen, die dabei an uns herantreten, zu berücksichtigen.

Fassen wir zunächst die Tatsache, daß die Fibringerinnung besonders rasch an rauhen Oberflächen einzusetzen pflegt, ins Auge, so möge die Aufmerksamkeit darauf gelenkt werden, daß es sich dabei um einen Faktor handelt, dem eine sehr große Bedeutung zugesprochen werden kann. Denn dieser Faktor, den man ja auch unter der Bezeichnung "mechanisches Moment" bei der Gerinnung in der Literatur erwähnt findet, ist

¹⁾ Traité technique d'Histologie, 1875.

²) Arch. f. d. ges. Physiol. 156, 361, 1914.

430 E. Hekma:

nicht nur in theoretischer, sondern auch in praktischer Hinsicht von Belang. Denn es hängen mit der Frage nach der Ursache der negativen Wirkung von glatten und der der positiven von "rauhen" Oberflächen die Fragen mittelbar zusammen, weshalb das strömende Blut bei intakter Gefäßwand flüssig bleibt, weshalb das Blut auf Wunden so schnell gerinnt, weshalb das Blut während einer gewissen Zeit innerhalb der Blutgefäße in Ruhe versetzt werden kann, ohne daß eine Gerinnung einzutreten braucht, sowie die, weshalb bei verletzter Gefäßwand Fibrinausscheidung (als Teilerscheinung der Thrombenbildung) auftreten kann.

Ich möchte die Verhältnisse in betreff der von glatten und rauhen Oberflächen ausgeübten Einflüsse einer Besprechung unterziehen an der Hand einiger einfachen Experimente. Dabei werde ich zugleich die Gelegenheit haben, die Aufmerksamkeit zu lenken auf einen anderen Faktor, der sich in Hinsicht zu der Beschleunigung bzw. Verzögerung der Fibrinausscheidung geltend machen kann, nämlich die Eintrocknung durch Verdunstung bzw. deren Vorbeugung.

Bekanntlich besteht das von Bürker¹) eingeführte Verfahren, um das Blut zeitweise flüssig zu erhalten, darin, daß ein Blutstropfen, z. B. aus der Fingerkuppe, auf eine geglättete Paraffinschicht (also auf eine glatte Oberfläche) aufgefangen und in die feuchte Kammer gestellt (also vor Verdunstung geschützt) wird. Das alleinige Auffangen auf eine glatte Oberfläche genügt nicht; läßt man einen auf Paraffin aufgefangenen Blutstropfen an der Luft stehen, so trocknet der Tropfen allmählich ein unter Fibrinausscheidung. Der Tropfen überzieht sich dabei nämlich bald mit einer halbweichen Haut, in der sich bei der mikroskopischen Untersuchung Fibrinfädchen nachweisen lassen. Überläßt man einen solchen Tropfen lange genug an der Luft sich selbst, so trocknet er zu einem Scheibchen ein, das der Paraffinoberfläche locker aufliegt und sich dementsprechend leicht mit einer Pinzette entfernen läßt. Einem solchen Scheibchen liegt laut der mikroskopischen Untersuchung ein Fibrinfädchenwerk zugrunde. Um das Fibrinfädchenwerk nachzuweisen, empfiehlt es sich, das Scheibchen nicht erst ganz und

¹⁾ Archiv, f. d. ges. Physol. 102, 36, 1904.

gar eintrocknen zu lassen. Es wird nämlich das Scheibchen schließlich ganz starr, hart und zugleich auch brüchig.

Stellt man einen Parallelversuch in der Weise an, daß man einen Blutstropfen, anstatt auf Paraffin, in der Höhlung eines hohl geschliffenen Objektträgers, also auf eine "rauhe Oberfläche" auffängt und dann an die Luft stellt, so gestalten sich die Verhältnisse insoweit anders, als die eingetrocknete Blutmasse an der Glasoberfläche einigermaßen haftet, was wenigstens teilweise auf eine gleichzeitige Einsetzung der Fibrinausausscheidung an der Blut-Glasgrenzschicht zurückgeführt werden dürfte. Bei der Fibringerinnung in dem auf Paraffin sich vorfindenden Blutstropfen macht sich offenbar lediglich die Eintrocknung als die Fibrinausscheidung in allererster Instanz anregendes Moment geltend, während bei den auf Glas aufgefangenen Tropfen außerdem ein von der rauhen Glasoberfläche ausgeübter Einfluß in Betracht kommen mag. Daß es eben nur diese Faktoren sind, die bei diesen Versuchen einzig und allein als erste Ursachen der Fibringerinnung betrachtet werden müssen, geht aus dem Umstande hervor, daß, wenn ein auf Paraffin aufgefangener Blutstropfen in die feuchte Kammer gestellt, also vor Verdunstung möglichst geschützt wird, der Tropfen während geraumer Zeit flüssig bleibt. Bei einer voreingenommenen Beurteilung könnte man nicht nur in dem Einsetzen der Fibrinausscheidung an der rauhen Glasoberfläche, sondern namentlich in der Tatsache, daß einfach infolge der Verdunstung rasch Fibrinausscheidung eintritt in einem auf einer glatten Oberfläche aufgefangenen Blutstropfen, eine gewisse Analogie mit dem Auskrystallisieren irgendeines krystalloiden Körpers aus einer Lösung erblicken.

Wir können uns jedoch von dem von der Verdunstung bzw. Eintrocknung sowie von rauhen Oberflächen ausgeübten Einfluß auf die Fibrinausscheidung auch eine andere Vorstellung bilden, und zwar unter Voraussetzung der Richtigkeit der gangbaren Auffassung, daß von Blutformelementen herkommende Zerfallsprodukte bei der Fibringerinnung eine Rolle spielen können, bzw. nach meiner Ansicht, daß solche Substanzen mit dem flüssigen Fibrin unter Ausscheidung dieses Eiweißkörpers zu reagieren vermögen. Es wird, wie man mit einigem Grunde annehmen darf, infolge der Wasserver-

dunstung bzw. des Eintrocknens des Blutes ein massenhafter Zerfall von Blutformelementen — namentlich von den äußerst vulnerablen Leukocyten und Blutplättchen — stattfinden und zwar naturgemäß vor allem in den oberflächlichsten Schichten des Tropfens. Demgemäß werden in dem Kuppenteil des Blutstropfens Wechselwirkungen zwischen dem flüssigen Fibrin und jenen von zugrunde gegangenen Blutformelementen stammenden Substanzen eintreten, mit der Folge: Fibrinausscheidung an Ort und Stelle. Je nachdem die Verdunstung, bzw. die Eintrocknung eine größere wird, werden mehr Blutformelemente in Zerfall übergehen, indem dementsprechend auch die Fibrinausscheidung von außen nach innen fortschreitet.

Bei dem auf Glas sich vorfindenden Blutstropfen wird außerdem von der rauhen Glasoberfläche ein den Zerfall der Blutformelemente befördernder Einfluß ausgeübt werden können, so daß in diesem Fall auch in den untersten Schichten des Tropfens die Bedingungen für das Zustandekommen einer Fibrinausscheidung vorhanden wäre.

Tatsächlich findet man denn auch bei dem eintrocknenden, auf Glas sich vorfindenden Blutstropfen öfters zarte Fäden Blutglasgrenzschicht, die an der Glasoberfläche das eintrocknende und haften 1). Ich sage mit Absicht: nicht das ganz trockene Blut. Denn bei dem Haften einer ganz und gar trockenen Blutmasse an der Glaswand kann das Fibrin nicht mehr in Betracht kommen, weil das ausgetrocknete Fibrin seine Klebrigkeit ganz verloren hat, indem es hart, starr und brüchig geworden ist. — Beiläufig sei bemerkt, daß ähnliche Gesichtspunkte maßgebend sein dürften bei der Bildung und der Haftung des Blutkoagulums auf einer Wunde. Hier kommen allerdings zwei Umstände hinzu. Nämlich erstens der, daß auch die von der Wundfläche herkommenden Zell- und Gewebezerfallsprodukte, insoweit sie mit dem flüssigen Fibrin zu reagieren vermögen, sich bei der Fibrinausscheidung beteiligen werden, so daß letzterer Vorgang in diesem Falle noch bedeu-

¹) D. h., wenn der Blutstropfen in der Höhlung eines hohl geschliffenen Objektträgers sich befindet, nicht oder nur kaum, wenn der Tropfen auf ein ebenes Objektglas aufgefangen wird. In letzterem Falle ist offenbar die Retraktionskraft des Gerinnsels der Haftkraft der Fibrinausscheidungen überlegen.

tend rascher zustande kommen kann. Und zweitens der, daß die Wundfläche eine weit "rauhere" Oberfläche darstellt als das Glas, so daß die Bedingungen für ein rascheres und ausgiebigeres Ankleben der Fibrinausscheidungen in diesem Falle äußerst günstige sind. Dazu kommt außerdem noch der Umstand, daß die Unterfläche des Blutkoagulums eine geraume Zeit feucht bleibt, so daß die inzwischen ausgebildeten Fibrinfädchen nicht eintrocknen und somit ihre Haftkraft beibehalten. Erst nachdem der Blutschorf ganz eingetrocknet ist, wird das Fibrin sich nicht oder kaum mehr bei der Anhaftung des Schorfes an der Wundfläche beteiligen können, und es mag dann auch teilweise diesem Umstand zu verdanken sein, daß der ganz eingetrocknete Blutschorf einer flachen Wunde schließlich nur verhältnismäßig locker aufsitzt. —

Es lassen sich weiter meiner Erfahrung nach ähnliche Parallelversuche mit nach Bürker erhaltenen blutplättchenreichen, aber sonst blutformelementfreien Plasmatropfen anstellen. Man entnimmt zu diesem Zwecke der Kuppe eines auf Paraffin aufgefangenen und in die feuchte Kammer gestellten Blutstropfen nach einiger Zeit ein Plasmaplättchentröpfchen mit einem Deckglase und einem zweiten dergleichen Blutstropfen ein Tröpfchen mit einem paraffinierten Deckglase. Die letztere Manipulation gelingt allerdings nicht ganz leicht. Wenn die Plasmaplättchentröpfchen an die Luft gestellt werden, so beobachtet man cet. parib. ähnliche Erscheinungen wie die vorstehend an einem ganzen Blutstropfen beschriebenen. Man könnte in diesen Beobachtungen bei einseitiger Betrachtung leicht einen Beweis erblicken für die "spezifische Wirkung" der Blutplättchen der Fibrinausscheidung gegenüber. Wo sich jedoch ergeben hat, daß gar manche organische sowie anorganische Agentien Fibrinausscheidung zu erzeugen vermögen, da entspricht selbstredend die Annahme, daß die Blutplättchenzerfallsprodukte eben eins dieser Agentien darstellen, viel mehr den tatsächlichen Verhältnissen.

Übrigens scheint die Frage berechtigt, ob bei den zuletzt angedeuteten Versuchen die Blutplättchen und bei den zuerst erwähnten die Leukocyten und Blutplättchen, bzw. ihre Zerfallsprodukte, die einzigen Faktoren seien, die für das Zustandekommen der Fibrinauscheidung in dem plättehenhaltigen Plasma, bzw. in dem Blute, verantwortlich gemacht werden müssen. Es fragt sich nämlich, ob die "rauhe Oberfläche" und namentlich auch die Verdunstung bzw. Eintrocknung des Plasmas bzw. Blutes nicht in noch anderer Weise einen Einfluß auf die Fibrinausscheidung ausüben könnte als dadurch, daß sie den Zerfall von Blutformelementen fördern. Und zwar in dem Sinne, daß diese Faktoren unmittelbar in dem flüssigen Fibrin an sich einen Angriffspunkt finden könnten. Auf diesen Gedanken muß uns, wie mir scheint, das Verhalten von ganz blutformelementenfreien Gerinnungsflüssigkeiten, rauhen Oberflächen und der Verdunstung gegenüber, mit Nachdruck führen.

Ich hatte in dem vorhergehenden Aufsatz schon Gelegenheit, auf die Tatsache hinzuweisen, daß in möglichst blutformelementen- (inkl. plättchen-)freiem Fluoridplasma die Fibrinausscheidung bedeutend rascher einsetzi, wenn ein Tropfen dieses Plasmas zwischen ein Objekt- und Deckglas eingeschlossen, also mit rauher Oberfläche in ausgiebige Berührung gebracht, als wenn dasselbe Plasma in einem Glasgefäß sich selbst überlassen wird. Die Ursache dieses Verhaltens kann, soweit ich sehe, nur auf einen von der rauhen Glasoberfläche ausgeübten Einfluß zurückgeführt werden, weil die sonstigen Bedingungen ja dieselben geblieben sind.

Auch kann lediglich infolge des Eintrocknens von ganz blutformelementenfreien fibrinhaltigen Flüssigkeiten Fibrinausscheidung zustande kommen. Daß dem so ist, läßt sich am bequemsten und einwandfreiesten nachweisen bei der Verwendung eines künstlichen Fibrinalkalihydrosols (d. h. also eine "Lösung" von möglichst reinem Fibrin in schwachem Alkali) als "Gerinnungsflüssigkeit". Überläßt man einen Tropfen eines künstlichen Fibrinalkalihydrosols auf eine Paraffinschicht sich selbst an der Luft, so wird der Tropfen bald weniger flüssig, er wird dickflüssig und schließlich bleibt ein halbweiches bzw. halbfestes Scheibehen zurück¹). Bei der mikroskopischen Untersuchung bekommt man in diesem Falle allerdings kaum oder doch nur ausnahmsweise richtige Fädchen, im Gegenteil fast nur "Schollen" zu Gesicht.

¹⁾ Läßt man den Eintrocknungsvorgang länger währen, so erhält man am Ende ein ganz festes, brüchiges Scheibchen, das sich mitunter durchsichtig wie Glas, gewöhnlich jedoch etwa wie Milchglas ausnimmt.

Weil die "Gerinnungsflüssigkeit" in diesem Falle bloß Fibrin, Alkali und Wasser enthält, da kann die ausgeschiedene Substanz dementsprechend keine andere als Fibrin (bzw. alkalihaltiges Fibrin, bzw. Fibrin + NaOH) sein; die Fibrinausscheidung kann also nur auf den Wasserverlust, bzw. auf das Eintrocknen zurückgeführt werden. Ich werde übrigens auf diese Angelegenheit später noch zurückkommen.

Verfolgen wir nun an zweiter Stelle die Vorgänge, die sich bei einem auf Paraffin und einen auf Glas aufgefangenen Blutstropfen in demjenigen Fall beobachten lassen, wenn man dieselben sofort in die feuchte Kammer unterbringt, also möglichst vor Verdunstung schützt. Stellt man einen aus der Fingerkuppe auf eine Paraffinschicht aufgefangenen Blutstropfen sofort in die feuchte Kammer, verwendet man also m. a. W. das Bürkersche Verfahren, so bleibt der Tropfen geraume Zeit flüssig. Diese Tatsache muß naturgemäß in erster Instanz zwei Ursachen zu verdanken sein, und zwar der Berührung des Blutes mit einer glatten Oberfläche und der Schützung vor einer raschen Verdunstung, also zwei Faktoren, die außerhalb des Blutes selbst liegen.

In einem solchen Blutstropfen findet zunächst eine gewisse Trennung seiner Bestandteile statt; die Erythro- und Leukocyten senken sich, während die spezifisch leichten Bestandteile, das flüssige Fibrin enthaltende Plasma und die Blutplättchen sich in den Kuppenteil vorwiegend ansammeln. Beläßt man den Tropfen lange genug in der feuchten Kammer (einige bis 24 Stunden), so bildet sich in dem Kuppenteil ein Fibrinhäutchen aus, das sich mit einer Pinzette glatt entfernen läßt, in dem der Basisteil, worin sich nur sehr wenig ausgeschiedenes Fibrin vorfindet, dabei mehr oder weniger verflüssigt.

Bei dem Parallelversuch, bei dem der Blutstropfen sich nur insoweit unter anderen Bedingungen vorfindet, als der Tropfen in der Höhlung eines hohl geschliffenen Objektglases aufgefangen worden ist, liegen die Verhältnisse folgendermaßen. Auch in diesem Fall findet man in dem Kuppenteil ein Häutchen, das sich allerdings gewöhnlich weniger glatt mit einer Pinzette entfernen läßt: es hängt in der Regel durch Ausläufer mit dem Inhalt des Blutstropfens zusammen. In dem Basisteil des Tropfens läßt sich bei der mikroskopischen Untersuchung das Vor4 36 E. Hekma:

handensein von verhältnismäßig zahlreichen Fibrinfädchen feststellen, während einzelne zarte Fäserchen an der Glasfläche vorgefunden werden. Während aber in dem Kuppenteil ein stark ausgebildetes verfilztes Fibrinfädchenwerk vorhanden ist, ist der Basisteil nur von Fäserchen, die offenbar mit Ausläufern an der Glasoberfläche befestigt sind, durchsponnen. In dem Sinne jedoch, daß das Fädchenwerk in dem Basisteil stärker entwickelt ist als in dem entsprechenden Teil des auf Paraffin sich vorfindenden Blutstropfens. Die Ursache des etwas verschiedenen Verhaltens des Paraffin- und des Glastropfens kann hier, weil ja sonst die Versuchsbedingungen gleich sind 1), naturgemäß nur in einem von der rauhen Glasoberfläche ausgeübten positiven Einfluß auf die Gerinnung gesucht werden.

In welcher Weise wären nun die oben kurz skizzierten Befunde zu erklären? Einem diesbezüglichen Erklärungsversuch wären die folgenden Erwägungen zugrunde zu legen:

Der Blutstropfen ist in der feuchten Kammer zwar tunlichst vor Verdunstung bzw. Eintrocknung geschützt, aber dieser Schutz wird doch schließlich kein so absoluter sein, daß nicht ganz allmählich eine äußerst geringe Verdunstung stattfindet. Dann wäre zu berücksichtigen, daß die Leukocyten und Blutplättchen sehr vulnerablen, äußeren Einflüssen wenig Widerstand leistende Elemente darstellen. Und schließlich, daß die frisch zur Ausscheidung gelangten "Fibrinformelemente" klebrig sind und daß dasselbe der Fall ist mit den Blutplättchen. Da nun der auf Paraffin aufgefangene und in die feuchte Kammer gestellte Blutstropfen mit einer glatten Oberfläche in Berührung kommt, und indem er möglichst vor Verdunstung geschützt ist, kann sich keine rauhe Oberfläche als "mechanisches Moment" geltend machen, und auch der Einfluß der Verdunstung wird anfangs

¹) Allerdings sind die Versuchsbedingungen noch insoweit etwas verschieden, als der Glastropfen sich in einer Höhlung eines Objektträgers vorfindet. Der Versuch läßt sich nämlich nicht so machen, daß der Blutstropfen auf einem gewöhnlichen planen Objektträger aufgefangen wird, weil dabei der Tropfen in der feuchten Kammer mehr oder weniger auseinanderfließt, in dem dann verhältnismäßig bald Fibrinausscheidung eintritt, und zwar in Form eines zusammenhängenden, sich retrahierenden Gerinnsels. Will man die Versuchsbedingungen in dieser Hinsicht ganz gleich machen, so kann man das Paraffin einfach etwas aushöhlen.

nicht oder kaum in Betracht kommen. Der einzige Faktor, der zunächst (d. h. solange sich die Verdunstung nicht geltend macht) in Kraft treten könnte, wäre ein "spontaner" Zerfall der Blutformelemente. Doch ist dieser Zerfall offenbar anfangs ein so niedriger, daß die eventuellen spärlichen Zerfallsprodukte sich dem flüssigen Fibrin gegenüber nicht als "Reagenzien" geltend machen können, und außerdem spielen ebensowenig etwaige andere fibrinausscheidende Einflüsse mit, denn das Experiment weist ja nach, daß zunächst (d. h. innerhalb einer halben Stunde z. B., oft bedeutend länger) keine Fibrinausscheidung eintritt, bzw. daß das Fibrin zunächst flüssig bleibt. Demzufolge können die Blutbestandteile der Schwerkraft nachgeben und sich in der oben erwähnten Weise trennen. Und auch nachdem schon eine gewisse Trennung stattgefunden hat, tritt zunächst noch keine Fibrinausscheidung ein, weder in dem Kuppen- noch in dem Basisteil des Tropfens, ungeachtet des Umstandes, daß der Kuppenteil sozusagen von Blutplättchen strotzt und daß sich an dieser Stelle Plasma, und somit flüssiges Fibrin, angehäuft hat.

Daß in dem Kuppenteil tatsächlich zunächst keine Fibrinausscheidung stattfindet, läßt sich leicht in der Weise nachweisen, daß man dem Kuppenteil (z. B. 20 Minuten nach
der Blutentnahme) mit einem Deckglase ein Plasmaplättchentröpfchen entnimmt und dieses möglichst rasch zwischen das
Deck- und ein Objektglas einschließt. Bei der sofortigen ultramikroskopischen Untersuchung stellt sich dann heraus, daß das
Präparat bis auf Blutplättchen optisch leer ist.

In einem solchen Präparat setzt nun jedoch innerhalb weniger Minuten Fibrinausscheidung ein, offenbar infolge der Berührung der Plasmaplättchenschicht mit der rauhen Glasoberfläche. Denn sonstige Ursachen sind ja nicht vorhanden, weil die Bedingungen im übrigen dieselben sind wie in dem Blutstropfen selbst. Die rauhe Glasoberfläche könnte sich dabei in zweierlei Richtung geltend machen; erstens dadurch, daß unter ihrem Einfluß ein ausgiebiger Plättchenzerfall stattfinden würde, und zweitens in der Weise, daß unter ihrem Einfluß das Fibrin unmittelbar, ohne Vermittlung von Plättchenzerfallsprodukten, aus dem flüssigen in den festen Zustand übergehen könnte. Beides mag, wie später auseinandergesetzt werden

soll, der Fall sein. — Um nun auf die Vorgänge in dem Blutstropfen zurückzukommen, so wird das Absterben bzw. der "spontane" Zerfall der Blutplättchen in seinem Kuppenteil und der Leukocyten und Blutplättchen in seinem Basisteil¹) zweifellos allmählich zunehmen. Je nachdem dieser Zerfall fortschreitet, werden die Zerfallsprodukte mit dem flüssigen Fibrin in Wechselwirkung treten, mit dem Resultate: Fibrinausscheidung.

Daß in dem Kuppenteil eine weit ausgiebigere Fibrinausscheidung vorgefunden wird als in dem Basisteil, und zwar derartig, daß sich an jener Stelle schließlich ein dichtes, verfilztes Fädchenwerk bzw. ein Häutchen ausbildet, dürfte folgendermaßen zu erklären sein. Es haben sich flüssiges Fibrin und Blutplättchen in dem Kuppenteil des Blutstropfens angesammelt, so daß die Bedingungen für eine ausgiebigere Fibrinausscheidung hier äußerst günstig sein müssen, sobald der Blutplättchenzerfall ein erheblicher geworden ist. Wenn auch ein allmählich vor sich gehender "spontaner" Zerfall der Blutplättchen als Absterbeerscheinung gewissermaßen als selbstredend vorausgesetzt werden darf, so fragt es sich doch, ob nicht auch eine ganz allmähliche Verdunstung bzw. Eintrocknung in den alleroberflächlichsten Schichten des Tropfens sich in Hinsicht zu der Fibrinausscheidung geltend machen wird. Der Einfluß des Verdunstens bzw. des Austrocknens könnte sich in zwei Richtungen entfalten. Und zwar erstens in der Weise, daß infolge dieses Vorgangs der Zerfall von Blutplättchen (und in der Blut-Luftgrenzschicht des Basisteils auch der der Leukocyten) bedeutend gefördert wird, und zweitens in dem Sinne, daß durch die Verdunstung bzw. den Wasserverlust das flüssige Fibrin an sich, also unmittelbar ohne Vermittlung von Zerfallsprodukten der Blutformelemente, zur Ausscheidung gebracht werden könnte. Die Tatsache, daß die Fibrinausscheidung in einem auf Paraffin sich vorfindenden Blutstropfen je rascher vor sich geht, je unvollständiger die Schützung vor Verdunstung angeordnet wird, weist sehr bestimmt darauf hin, daß mit

i) Ein Zerfall von roten Blutzellen findet in der ersten Stunde offenbar kaum statt, wenigstens soweit der Umstand, daß das Plasma des Kuppenteils farblos bleibt, in dieser Hinsicht als maßgebend betrachtet werden darf.

dem Faktor Verdunstung bzw. Eintrocknung gehörig gerechnet werden muß¹).

Wie steht es nun mit den Verhältnissen bei dem auf Glas aufgefangenen und in die feuchte Kammer gestellten Blutstropfen, bzw. weshalb findet bei diesem Versuch in dem Basisteil des Tropfens eine ausgiebigere Fibrinausscheidung bzw. Gerinnung statt als in dem entsprechendem Teil des auf Paraffin aufgefangenen Blutstropfens? Hierzu müssen wir uns zunächst vergegenwärtigen, daß das Glas sich denjenigen Blutformelementen gegenüber, die sich in der Blut-Glasgrenzschicht vorfinden, als "rauhe Oberfläche" bzw. als "mechanisches Moment" geltend machen können wird, und dasselbe trifft zu in Hinsicht auf das flüssige Fibrin. Was die Blutformelemente betrifft, so bietet das Glas den klebrigen Blutplättchen die Gelegenheit, seßhaft zu werden und an Ort und Stelle zu zerfallen. Die Leukocyten und die roten Blutzellen fangen sofort an, sich zu senken; sie stoßen dabei sozusagen gegen die rauhe bzw. harte Glasoberfläche, wobei die Bedingungen für den Zerfall einer Anzahl von Leukocyten günstige sein werden. Es darf also mit großer Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß nach kurzer Zeit eine gewisse Menge Zerfallsprodukte von Blutplättchen und Leukocyten in den alleruntersten Schichten des Blutstropfens vorhanden sein werden, und daß dementsprechend an diesen Stellen eine gewisse Menge Fibrin verhältnismäßig rasch zur Ausscheidung gelangen kann. Inzwischen dürfte zu gleicher Zeit mit der Möglichkeit gerechnet werden müssen, daß durch die rauhe Glasoberfläche ein unmittelbarer ausscheidender Einfluß auf das flüssige Fibrin ausgeübt werden könnte.

Die in den alleruntersten Schichten des Blutstropfens zur Ausscheidung gelangenden länglichen Ultramikronen und Mikronen

¹⁾ Das geht ja auch schon aus der zuvor erwähnten Beobachtung hervor, daß in einem auf Paraffin aufgefangenen und an die Luft gestellten Blutstropfen verhältnismäßig rasch Fibrinausscheidung eintritt. Übrigens kann man sich sehr bequem von dem Einfluß des Verdunstens in der Weise überzeugen, daß man einen umgekehrten Glastrichter, dessen Innenraum mit wasserdurchtränktem Filtrierpapier versehen worden ist, als feuchte Kammer verwendet. Man kann dabei die Verdunstung gewissermaßen regulieren, indem man die Offnung des weiten und kurzen Trichterhalses mit feuchtem Filtrierpapier abschließt und in diesem je nach Bedarf kleinere und größere Offnungen macht.

werden wegen ihrer spezifischen Leichtigkeit das Bestreben haben, nach oben zu steigen. Aber eine andere Eigenschaft des frisch zur Ausscheidung gelangten Fibrins wird sich diesem Bestreben widersetzen, nämlich die Klebrigkeit. Die Fibrinausscheidungen werden demzufolge teilweise an der Glasoberfläche, aber namentlich an den Blutformelementen der untersten Tropfenschicht seßhaft werden. Demzufolge wird sich an diesen Stellen allmählich ein Fibrinfädchenwerk bzw. ein lockeres Gerinnselchen ausbilden, das mit zarten Ausläufern an der Glasoberfläche befestigt sein kann.

Fragen wir uns nun, welche neuen Gesichtspunkte die vorstehenden Ermittelungen erschließen¹), in Hinsicht auf die Frage nach der postulierten Analogie des Fibrinausscheidungsvorgangs mit dem Auskrystallisieren einer krystalloiden Substanz aus einer Lösung bzw. übersättigten Lösung, so wäre hierzu folgendes zu bemerken. Es ließe sich der von einer "rauhen Oberfläche" ausgeübte positive Einfluß auf die Fibringerinnung, insoweit es das Blut selbst oder blutformelementenhaltige Gerinnungsflüssigkeit betrifft, wenigstens teilweise auf einen mittelbaren Einfluß zurückführen. Und zwar in dem Sinne, daß erstens von einer "rauhen Oberfläche" der Zerfall der Blutformelemente beschleunigt wird, während zweitens den Fibrinausscheidungen eine günstige Gelegenheit zur Haftung geboten wird. Dabei wird allerdings von der Voraussetzung ausgegangen, daß die Zerfallsprodukte von Blutformelementen, Leukocyten und Blutplättchen, das Fibrin zur Ausscheidung zu bringen vermögen, eine Voraussetzung, die ja übrigens den tatsächlichen Verhältnissen entsprechen dürfte.

Da sich nun jedoch bei meinen Untersuchungen außerdem herausgestellt hat, daß auch in möglichst bzw. ganz blut-

¹) Beiläufig sei bemerkt, daß die vorgeführten Tatsachen und ihre Deutung gleichzeitig dazu beitragen könnten, uns eine bessere Einsicht zu gewähren in die früher schon erwähnte Frage: weshalb das strömende Blut flüssig bleibt, weshalb das Blut eine geraume Zeit innerhalb der Gefäße in Ruhe versetzt werden kann, ohne zu gerinnen, weshalb bei lädierten Gefäßen Fibrinausscheidung als Teilwirkung der Thrombenbildung eintritt und dergleichen. Es erscheint mir aus mehreren Gründen zweckmäßig, diese Gegenstände erst später im Zusammenhang mit anderen Auskünften einer eingehenden Besprechung zu unterwerfen.

formelementenfreien Gerinnungflüssigkeiten (z. B. Fluoridplasma, aus dem auch die Blutplättchen möglichst entfernt worden sind) die Fibrinausscheidung bedeutend beschleunigt wird von einer ausgiebigen Berührung mit rauhen (d. h. nicht glatten) Oberflächen (in casu mit einem Objekt- und Deckglas), da müssen wir zum Schluß gelangen, daß dieser Faktor auch einen unmittelbaren Einfluß auf das Übergehen des flüssigen Fibrins in den "festen" (wenigstens mikroskopisch sichtbaren) Zustand auzuüben vermag. Dadurch dürfte also die vorerwähnte Analogiefrage in einem ganz anderen Lichte erscheinen.

Dazu kommt noch der wichtige Umstand, daß sich ergeben hat, daß noch ein anderer Faktor, nämlich die Verdunstung bzw. Eintrocknung, eine bedeutende Rolle bei der Fibrinausscheidung spielen kann. Zwar müssen wir annehmen, daß auch der Einfluß dieses Faktors wenigstens teilweise auf eine mittelbare an den Blutformelementen angreifende Wirkung zurückgeführt werden könne, aber wir haben zu gleicher Zeit erfahren, daß in ganz blutformelementenfreien Flüssigkeiten, z. B. einem künstlichen Fibrinalkalihydrosol, ebenfalls Fibrinausscheidung, einzig und allein unter dem Einfluß der Wasserverdunstung eintreten kann. Allerdings gelangt das Fibrin in diesem Falle nicht in Form von länglichen Ultramikronen und Mikronen und sogar kaum von Fädchen zur Ausscheidung, sondern vielmehr als eine anscheinend strukturlose Gallerte, in der sich bei der mikroskopischen Untersuchung nur "Schollen" wahrnehmen lassen, und die sich bei weiterer Eintrocknung in eine ganz feste, zerbrechliche, dünne Platte verwandelt.

Sehen wir uns nun nach den anderen Tatsachen um, die bei der Beurteilung der Frage nach einer etwaigen Analogie des Fibrinausscheidungsvorgangs mit einem gewöhnlichen Krystallisationsprozeß in Betracht kämen.

Es braucht in dieser Beziehung an erster Stelle wohl kaum hervorgehoben zu werden, daß manche Gerinnungsflüssigkeiten oft alles weniger als "übersättigte Lösungen" darstellen. Es sei z. B. auf die altbekannte Tatsache hingewiesen, daß Transsudate öfters nur sehr wenig Fibrin enthalten, in dem nichtsdestoweniger in solchen Gerinnungsflüssigkeiten, z. B. durch Serumzusatz, Fibringerinnung erzeugt werden kann, während in derartigen Biochemische Zeitschrift Band 78.

Transsudaten außerdem gelegentlich eine scheinbar "spontane" Gerinnung eintritt. Und wir haben gesehen, daß dasselbe der Fall ist beim Fluoridplasma, also in einer durch eine Fluornatriumlösung verdünnten Gerinnungsflüssigkeit.

Aber abgesehen hiervon gibt es eine andere Tatsache, die in dieser Hinsicht schwer ins Gewicht fallen muß, nämlich die, daß durch Wasserzusatz, also bei einer Herabsetzung der Fibrinkonzentration, die Fibrinausscheidung in manchen Gerinnungsflüssigkeiten stark beschleunigt werden kann. Es möge hierzu vor allem die schon von Virchow1) gemachte Erfahrung in Erinnerung gebracht werden, daß in gewissen Transsudaten bzw. Exsudaten die Gerinnung durch Wasserzusatz erheblich beschleunigt wird. Nun wäre allerdings bezüglich des ursprünglichen Virchowschen Falles²) der Einwand zu erheben, daß die betreffende Flüssigkeit keineswegs blutformelementenfrei, namentlich nicht leukocytenfrei, war; daß somit infolge der Wasserverdünnung ein ausgiebiger Zerfall jener Blutformelemente hätte eintreten können; daß der Einfluß des Wassers auf die raschere Fibrinausscheidung hier also durch die Vermittelung der Leukocyten hätte zustande kommen können. Diese Möglichkeit ist ja auch gar nicht in Abrede zu stellen und mag bei blutformelementhaltigen Transsudaten (bzw. Exsudaten) im allgemeinen in Betracht gezogen werden müssen.

Aber meiner Erfahrung nach läßt sich auch in manchen solchen wirklichen Transsudaten, in denen kaum Blutformelemente enthalten sind, Fibringerinnung durch den Zusatz einer genügenden Menge Wasser erzeugen, sogar in solchen, in denen "spontan" kaum Gerinnselbildung stattfindet. Und ich kann hinzufügen, daß sich die Fibrinausscheidung auch dabei morphologisch zunächst in Form der länglichen Ultramikronen und Mikronen kundgibt.

Ganz einwandfrei sind in dieser Beziehung die künstlichen Fibrinalkalihydrosole, weil sie ganz blutformelementenfrei sind,

¹⁾ Virchows Archiv 1, 572, sowie gesammelte Abhandlungen 1. c.

⁹) Ebenderselbe Fall, der der Ausgangspunkt dafür geworden ist, daß Virchow die Fibrinogentheorie bzw. die Theorie, daß das Fibrin bei der Gerinnung erst aus einem anderen Eiweißkörper entstehen sollte, aufgestellt hat. Man vergleiche hierzu meine diesbezüglichen Ausführungen in Int. Zeitschr. f. physikal.-chem. Biologie 2, 279, 1915.

und weil wir ganz bestimmt wissen, welche Bestandteile in diesen Flüssigkeiten enthalten sind, nämlich nur Fibrin, Alkali und Wasser. Nun läßt sich auch in ein künstliches Fibrinalkalihydrosol durch genügenden Wasserzusatz Fibrinausscheidung herbeiführen, vorausgesetzt, daß das Sol nicht allzu wenig Fibrin enthält und namentlich, daß es mittels äußerst schwachem Alkali (z. B. ⁿ/₅₀₀-NaOH) hergestellt worden ist. Auch dabei gelangt das Fibrin zunächst in Form von länglichen Ultramikronen und Mikronen zur Ausscheidung.

Dürfte man die Ausscheidung des Fibrins in Gestalt von länglichen Ultramikronen und Mikronen, bzw. in Nadelform, als maßgebend für ihre Krystallisationsnatur betrachten, so müßte man logischerweise zu dem etwas sonderbaren Schlußgelangen, daß durch die Verdünnung einer Flüssigkeit mit Wasser Krystallbildung hervorgerufen werden könne!

Wie dem auch sei, es dürfte ohne weiteres klar sein, daß bei einer durch Wasserzusatz erzeugten Fibrinausscheidung von einer Analogie mit dem Auskrystallisieren eines krystalloiden Körpers aus einer Lösung gar nicht die Rede sein kann.

Ob in fibrinhaltigen Flüssigkeiten durch Wasserzusatz Fibrinausscheidung erzeugt werden kann oder nicht, ist offenbar namentlich von dem Alkaligehalt dieser Flüssigkeiten abhängig. In verhältnismäßig stark alkalischen Transsudaten und in solchen künstlichen Fibrinalkalihydrosolen, die mittels weniger schwachem Alkali (z. B. n/100-NaOH) hergestellt worden sind, läßt sich in der Regel keine Fibrinausscheidung durch Wasserzusatz erzeugen. In solchen stärker alkalischen Gerinnungsflüssigkeiten tritt auch keine "spontane" Fibrinausscheidung ein. Und ebensowenig läßt sich gewöhnlich in solchen Gerinnungsflüssigkeiten Fibrinausscheidung herbeiführen durch Zusatz von gesättigten Neutralsalzlösungen, CaCl.-Lösungen, Blutserum oder dem Schmidtschen Reagens. Demgegenüber läßt sich in dergleichen Flüssigkeiten Fibrinausscheidung hervorrufen durch Eintrocknung, durch Neutralisierung des Alkalis bzw. durch schwache Säuren und Reagenzien von Säurenatur, sowie von gewissen Eiweißreagenzien (HCl 1,126 D; HNO, 1,2 D; Metaphosphorsäure, Esbachs Reagens, Acetessigsäure usw.) in den üblichen Anwendungsweisen. Nur wenn ein Transsudat sehr schwach alkalisch ist, oder wenn ein künstliches Fibrinalkalihydrosol mit äußerst schwachem Alkali angefertigt worden ist, läßt sich in solchen Flüssigkeiten auch Fibrinausscheidung erzeugen unter dem Einfluß von gesättigter Neutralsalzlösung, CaCl₂-Lösung, Blutserum, dem Schmidtschen Reagens und Wasser.

Während bei einer Lösung irgendeines krystalloiden Körpers (z. B. von Na SO, um die von Ranvier erwähnte Substanz heranzuziehen) die Konzentration, in der die betreffende Substanz in der Lösung vorhanden ist, an erster Stelle maßgebend ist für ein eventuelles Eintreten der Krystallisation, und während dieser Vorgang von niedrigeren Temperaturen gefördert zu werden pflegt, liegen die Verhältnisse bei fibrinhaltigen Flüssigkeiten also ganz anders. Abgesehen davon, daß der Vorgang der Fibrinausscheidung gewöhnlich eben bei etwas erhöhter Temperatur rascher vor sich zu gehen pflegt, als bei einer niedrigen, ist für das Zustandekommen der Fibrinausscheidung nicht an erster Stelle die Konzentration, in der das Fibrin in den Gerinnungsflüssigkeiten enthalten ist, maßgebend, sondern vor allem der Alkaligehalt, bzw. die "Konzentration" des "Lösungsmittels". Was diesen letzten Punkt betrifft, sei noch erwähnt, daß das typische Gel-Fibrin, in welcher Weise es auch erhalten sein mag, in Wasser allein ganz unlöslich ist¹). Man mag eine Fibrinfasermasse so fein in Wasser verteilen, wie man will, immer bekommt man nur eine "wahre" Suspension, d. h. ein disperses System mit fester disperser Phase. Erst auf Zusatz einer Spur Alkali (oder Säure) kann eine klare, optisch leere "Lösung", bzw. ein disperses System mit "flüssiger" disperser Phase, erhalten werden.

Indem also, wie aus den vorstehenden Ermittelungen klar geworden sein mag, der Fibrinausscheidungsprozeß keineswegs unter allen Umständen mit dem Auskrystallisieren eines kristalloiden Körpers bzw. mit einem gewöhnlichen Krystallisationsprozeß auf eine Linie gestellt werden darf, wäre außerdem noch

¹⁾ Ein gewisser Vorbehalt kann jedoch gemacht werden in betreff des durch Eintrocknenlassen eines Fibrinalkalihydrosols erhaltenen atypischen (und alkalihaltigen) Gel, sowie in Hinsicht auf das unter dem Einfluß gewisser starker Neutralsalzlösungen (z. B. NaCl) zur Ausscheidung gelangte Fibrin. Man vergleiche zu dem letzten Gegenstand: Intern. Wochenschr. f. physik.-chem. Biologie, 1. c. S. 299.

darauf hinzuweisen, daß die Fibrinausscheidungen selbst gewisse Eigentümlichkeiten aufweisen, die für gewöhnliche Krystalle etwas fremdartig erscheinen dürften.

Als eine dieser Eigentümlichkeiten wäre an erster Stelle die allermerkwürdigste Erscheinung des sich An- und Gegeneinanderreihens der Länge nach von den länglichen Ultramikronen und Mikronen zu größeren Nadel- und schließlich zu fädchenförmigen Verbänden zu nennen. Weiter wäre darauf hinzuweisen, daß die länglichen Ultramikronen und Mikronen, bzw. Nädelchen, im frisch ausgebildeten Zustande klebrig, biegsam, gewissermaßen plastisch sind. Bürker hat sich schon dahin geäußert, daß den Fibrinausscheidungen das abgehe, was eine Krystallnadel charakterisiert, nämlich eine gewisse Starrheit und Begrenzung. Nun nehmen die nadelförmigen Fibrinausscheidungen sich, namentlich im Dunkelfeld, meiner Erfahrung nach öfters scharf begrenzt aus, aber biegsam sind die Elemente zweifellos, wenn man auch erst zunächst den Eindruck bekommt, mit starren Nadeln zu tun zu haben. Die kleinsten ultramikroskopisch wahrnehmbaren Fibrinausscheidungen (die "länglichen Punkte") sowie die richtigen Fädchen sind allerdings weniger scharf begrenzt, und die Fädchen sind außerdem besonders biegsam. Übrigens ist von Stübel auch schon auf die Eigenschaft der Biegsamkeit der Nadeln hingewiesen worden. Dieser Autor hat in dieser Eigenschaft indessen keinen Gegenbeweis einer Deutung der Fibrinnadeln als Krystalle erblickt¹); Stübel ist ja im Gegenteil zu der Ansicht gelangt, daß sämtliche Fibrinfädchen einfach verzerrte Nadeln bzw. Krystalle darstellen sollten, eine Auffassung, die ohne Zweifel nicht den tatsächlichen Verhältnissen entspricht, weil ein Teil der Nadeln sowie der Fädchen durch Aus- und Aufbauvorgänge aus feineren Elementen hervorgehen.

Es will mir scheinen, wie hier schon vorläufig bemerkt sein mag, daß die Biegsamkeit bzw. die Plastizität der Fibrinausscheidungen auf den Umstand zurückgeführt werden kann, daß sie, obwohl sie sich im mikroskopischen Bilde als fest aus-

¹) Was übrigens kaum befremden dürfte angesichts der Erweiterung, der dem Begriff "Krystall" zu Teil geworden ist; man pflegt ja auch ohne Bedenken von quellbaren und sogar von flüssigen Krystallen zu sprechen.

446 E. Hekma:

nehmen, in Wirklichkeit nicht ganz fest, sondern halbfest sind. Erst durch eine nachherige gänzliche Eintrocknung werden die Fibrinausscheidungen ganz fest, hart, wirklich starr. — Ich möchte in diesem Zusammenhang auch noch die Aufmerkamkeit darauf lenken, daß das ganz ausgebildete typische Gel-Fibrin, namentlich auch das möglichst reine, eine mehr oder weniger zähe, plastische und zu gleicher Zeit elastische Fasermasse darstellt, sowie darauf, daß diese Fasermasse durch gänzliche Eintrocknung seine Plastizität und Elastizität verliert, indem sie sich in eine starre, spröde Masse verwandelt, und endlich darauf, daß das Gel die Eigenschaften der Plastizität und Elastizität zurückerhält, wenn die starre Masse in Wasser übertragen wird.

Während es also manche Tatsache gibt, die sich mit der Auffassung des Fibrinausscheidungsvorgangs als einem Krystallisationsprozeß im gewöhnlichen Sinne des Wortes nicht vereinbaren läßt, und während dabei zu gleicher Zeit gewisse Daten aufzuweisen sind, die auf einen kolloidalen Ausfällungsprozeß hinweisen dürften, kann doch nicht verkannt werden, daß anderseits Tatsachen vorliegen, die den Gedanken an eine gewisse Ähnlichkeit des Fibrinausscheidungsvorgangs mit einem Krystallisationsprozeß zu erwecken imstande sind. — Dazu wäre, wie schon vorher hervorgehoben wurde, an erster Stelle der Umstand zu rechnen, daß in ganz blutformelementenfreien Gerinnungsflüssigkeiten (Fluoridplasma z. B.) anscheinend "spontan" Fibrinausscheidung auftreten und daß dieser Vorgang von einem "mechanischen Moment", wie durch ausgiebigere Berührung mit rauher Oberfläche, gefördert werden kann. Auch die Tatsache, daß in ganz blutformelementenfreien Gerinnungsflüssigkeiten lediglich infolge des Wasserverlustes durch Verdunstung Fibrinausscheidung eintreten kann, würde mit einigem guten Willen in diesem Sinne gedeutet werden können.

Dazu müssen wir uns außerdem vergegenwärtigen, daß die nadelförmigen Fibrinausscheidungen auf den ersten Blick Krystallen der Form nach täuschend ähnlich sehen, und daß die Nädelchen nach Art von Krystallen unter Umständen urplötzlich in dem mikroskopischen Gesichtsfelde emporschießen können. Es sind ja eben auch diese Erscheinungen gewesen, durch die Schimmelbusch zu dem etwas kühnen Schluß ge-

langt ist, daß der Gerinnung ein Krystallisationsprozeß zugrunde liegen sollte. Nun wäre hierzu allerdings zu bemerken, daß sich bei meinen Untersuchungen herausgestellt hat, daß das Fibrin keineswegs immer in Form von krystallähnlichen Nädelchen zur Ausscheidung gelangt. Die tatsächlichen Verhältnisse sind ja diese, daß das Fibrin auch unmittelbar in fädiger Form zur Ausscheidung gelangen kann. Daß weiter auch die richtigen, oft sehr langen Fädchen und sogar ganze Fädchenbündel nach Art von Krystallen urplötzlich fix und fertig im Gesichtsfelde erscheinen können, eine Erfahrung, die übrigens alles weniger als neu sein dürfte.

Damit ist zwar die eigentliche Grundlage, auf die Schimmelbusch seine Theorie aufgebaut hat und zu gleicher Zeit einer der Hauptpfeiler, auf den Stübel bei der Übernahme dieser Theorie sich gestützt hat, erschüttert worden, aber nichtsdestoweniger brauchte die Tatsache an sich, daß das Fibrin auch unmittelbar in fädiger Form erscheinen kann, der Möglichkeit, daß eine Art Krystallisationsprozeß vorliegen könnte, schließlich nichts im Wege zu stehen. Es darf ja keineswegs als unannehmbar, im Gegenteil sogar gewissermaßen als auf der Hand liegend betrachtet werden, daß das Fibrin nur deshalb gelegentlich unmittelbar in Fädchenform erscheint, weil die Ausscheidung der länglichen Ultramikronen und ihre An- und Gegeneinanderreihung zu Fädchen in diesem Falle zeitlich zusammentreffen bzw. daß die länglichen Fibrinmolekulkomplexe sich schon während ihrer Ausscheidung auch zu größeren Verbänden, die sich im ausgeschiedenen Zustande als Fädchen präsentieren, anordnen können. Die Erscheinung des Fibrins in Nadel- und Fädchenform würde sich demgemäß unter einen einzigen Gesichtspunkt bringen lassen, und wenn die Nadeln als Krystalle bzw. Krystallverbände zu deuten seien, so würde kein Grund vorliegen, die Fädchen mit einem andern Namen zu bezeichnen. Eigentümlich bliebe dabei nur die Erscheinung, daß die eventuellen Fibrinkryställchen sich stets zu Längsverbänden anordnen würden, und zwar auch schon vor ihrer Bildung. Unter demselben einheitlichen, soeben erwähnten Gesichtspunkte ließe sich übrigens auch die, allerdings nur gelegentlich zu beobachtende Erscheinung des unnachspürlichen "Wachsens" der länglichen Ultramikronen und Mikronen bringen, ein Vorgang, der ja an sich

allerdings eine gewisse Ähnlichkeit mit dem "Wachsen" von Krystallen aufweisen dürfte.

Nach alledem dürfte es bis auf weiteres den Vorzug verdienen, die Vorgänge bei der Fibringerinnung mit Umgehung der Worte Krystallisations- und kolloidaler Ausfällungsprozeß zum Ausdruck zu bringen. Unter Heranziehung einiger gangbarer kolloid-physikalisch-chemischer Ausdrücke und unter Berücksichtigung des Umstandes, daß das Fibrin im Blute und in den Körperflüssigkeiten in einem ähnlichen Zustande vorhanden ist, wie in den künstlichen Fibrinalkalihydrosolen: also im präexistierenden amikroskopischen Zustande, und zwar in lockerer Verbindung mit Alkali bzw. in Form einer Alkaliadsorptionsverbindung ("Fibrinogen"), könnte man etwa die folgende Ausdrucksweise verwenden.

Die Fibringerinnung bzw. die Gerinnsel- bzw. die Gelbildung in natürlichen und künstlichen Fibrinalkalihydrosolen läßt sich als ein in zwei Phasen verlaufender Vorgang betrachten. Dis erste Phase, die Ausscheidung des Fibrins, besteht in dem Übergang dieses Eiweißkörpers aus dem Alkalihydrosol in den einfachen Hydrosolzustand bzw. aus dem Emulsionsin den "wahren" Suspensionszustand bzw. aus einem dispersen System mit flüssigen dispersen Phasen in ein disperses System mit fester (bzw. halbfester) disperser Phase. Bei diesem Übergang erscheinen die Fibrinteilchen zunächst in der Form von kaum wahrnehmbaren länglichen Ultramikronen, indem nach und nach auch etwas größere längliche Ultramikronen, wie längliche Mikronen von Nadelform und unter Umständen von Fädchenform zur Ausscheidung gelangen.

Die zweite Phase besteht darin, daß die länglichen Ultramikronen und nadelförmigen Mikronen sich durch ein Sich-an-und-gegeneinanderreihen der Länge nach sowie durch Anlagerung von zuvor unsichtbaren Fibrinmolek ulkomplexen zu größeren nadelförmigen Mikronen und schließlich zu richtigem Fädchen aus- und aufbauen.

Die Tatsache, daß das Fibrin unmittelbar in Form von größeren nadelförmigen sowie von fädchen-

förmigen Gebilden zur Ausscheidung gelangen kann, wäre darauf zurückzuführen, daß die beiden erwähnten Phasen: die Ausscheidung von Fibrin in länglichen Ultramikronen und feinen Mikronen und die Aus- und Aufbauerscheinungen zeitlich zusammentreffen.

Wenn keine hindernden Bedingungen vorhanden sind, ist das nächste Endresultat der Fibringerinnung stets die Ausbildung von den bekannten typischen Fibrinfädchen, die ihrerseits schließlich, indem sie sich in allerhand Weisen, je nach den Umständen anordnen können, zu der Bildung des Gel-Fibrins bzw. des Gerinnsels Veranlassung geben.

Wenn sich auch der Gerinnungsvorgang insoweit mit Hilfe einer gewissen Terminologie zum Ausdruck bringen läßt, so müssen wir uns doch zu gleicher Zeit vergegenwärtigen, daß die Frage nach der Natur der Fibrinalkalihydrosole bzw. dieser dispersen Systeme mit flüssiger disperser Phase bzw. dieser "Emulsionen" und somit die nach der eigentlichen Natur des Fibrinausscheidungsvorgangs zu lösen übrig bleibt. Es braucht übrigens wohl kaum die Aufmerksamkeit darauf gelenkt zu werden, daß es sich hier um Fragen handelt, die zu gleicher Zeit von einem mehr allgemeinen kolloid-physikalisch-chemischen Gesichtspunkte aus von Interesse erachtet werden müssen.

Denn die Frage nach der Natur der "kolloiden Lösung" bzw. der dispersen Systeme mit "flüssiger" disperser Phase, die ja eines der Grundprobleme der Lehre von den "Kolloiden" darstellt, ist bekanntlich noch immer in lebhafter Diskussion begriffen; und außerdem hängt mit dieser Frage eine andere grundsätzlich wichtige zusammen, nämlich die, inwieweit zwischen den "Kolloiden" und den "Krystalloiden" eine Grenze gezogen werden muß.

Es lagen somit außer dem Wunsche, womöglich eine Einsicht in die Frage nach dem eigentlichen Wesen der Fibrinausscheidung zu gewinnen, noch andere schwerwiegende Gründe vor, die es der Mühe wert erscheinen lassen, zunächst der Frage nach der Natur der "kolloiden Lösungen" des Eiweißkörpers Fibrin, vor allem nach der des Fibrinalkalihydrosols, näher zu treten zu versuchen.

Nun lagen allerdings bereits gewisse Tatsachen vor, die ein vorläufiges Urteil über die Frage, ob es sich bei den Fibrinalkalihydrosolen um "wahre" oder anderweitige "Lösungen" handele, zuließen.

Es war klar, daß, falls die Fibrinalkalihydrosole etwa "wahre" homogene Lösungen im Sinne von krystalloiden Lösungen darstellen sollten, sämtliche Agenzien, die das Fibrin zur Ausscheidung zu bringen vermögen, in dem "Lösungsmittel" Alkali ihre Angriffspunkte finden müßten¹). Insoweit es die schwachen Säuren und Substanzen von Säurenatur betrifft, ist es auf der Hand liegend, daß diese Agenzien auch das Alkali angreifen werden, daß sie, indem sie das "Lösungsmittel" Alkali neutralisieren, das Fibrin zur Ausscheidung bringen können. In der Wirkung dieser Agenzien dürfte somit kein entscheidender Hinweis in der einen oder anderen Richtung erblickt werden; es würde sich diese Wirkung sogar mit der Auffassung des Fibrinalkalihydrosols als "wahre" Lösung sehr wohl vereinbaren lassen. Auch manche andere Agenzien, wie das Blutserum, das Schmidtsche Reagens, CaCl₂-Lösungen usw. dürften ihre Angriffspunkte in dem Alkali finden können⁹). Andererseits wäre es ganz unverständlich, wie im Rahmen der Voraussetzung, daß es sich bei den Gerinnungsflüssigkeiten um "wahre" Lösungen handeln könnte, die Tatsache zu erklären sei, daß in blutformelementenfreien Flüssigkeiten die anscheinend "spontane" Fibrinausscheidung von der Berührung mit rauher Oberfläche bedeutend beschleunigt werden kann, denn ein Einfluß auf das "Lösungsmittel" Alkali kann ja naturgemäß von rauher Oberfläche nicht ausgeübt werden.

Aber vor allem müßte die Tatsache, daß in natürlichen und künstlichen Fibrinalkalihydrosolen unter Umständen unter dem Einfluß von Wasser und von gesättigten Neutralsalzlösungen Fibrinausscheidung hervorgerufen werden kann, sich gegen die Deutung von Fibrinalkalihydrosolen als gewöhnliche "wahre" Lösung widersetzen. Es ist ja klar, daß (um die Wasserwirkung noch ganz außer Betracht zu lassen) Neutralsalzlösungen nicht mit Alkali zu reagieren vermögen.

¹) Mit Ausnahme der Fibrinausscheidung durch Wasserverdunstung bzw. Eintrocknung.

²) Man vergleiche hierzu meine Ausführungen in Int. Zeitschr. f. physikal.-chem. Biologie 1. c. S. 299.

Und indem nichtsdestoweniger gesättigte Neutralsalzlösungen das Fibrin aus einem Fibrinalkalihydrosol zur Ausscheidung zu bringen imstande sind, lag der Schluß übrigens auf der Hand, daß diese Agenzien ihre Angriffspunkte irgendwo anders finden müssen. Weil in einem künstlichen Fibrinalkalihydrosol außer Alkali nur Fibrin und Wasser enthalten sind, so konnten nur das Fibrin selbst oder das Wasser als Angriffspunkte für die gesättigte Neutralsalzlösung in Betracht kommen. Das Fibrin selbst konnte ebenfalls ausgeschaltet werden, denn das Fibrin wird von gesättigten Neutralsalzlösungen (z. B. NaF) mit unveränderten Eigenschaften aus einem Fibrinalkalihydrosol reversibel ausgefällt. Ein unter dem Einfluß einer gesättigten Fluornatriumlösung in einem Fibrinalkalihydrosol frisch gebildetes Gel weist eben dieselben Eigenschaften auf wie das Gel-Fibrin, das zur Herstellung des ersten Fibrinalkalihydrosols verwendet worden ist. Und jenes Gel kann außerdem wieder von schwachem Alkali zur "Lösung" gebracht werden, während auch in diesem Fibrinalkalihydrosol wieder Fibrinausscheidung, z. B. von einer gesättigten NaF-Lösung, erzeugt werden kann, in dem Sinne, daß die morphologischen Erscheinungen bzw. die physikalische Entwickelungsgeschichte des Gels Fibrin in sämtlichen Fällen stets dieselben sind.

Es konnte somit schließlich nur das Wasser des Fibrinalkalihydrosols sein, das als Angriffspunkt für die Fibrin ausscheidende Wirkung der gesättigten Neutralsalzlösungen in Betracht kommen könnte. Nun wäre ja gar nicht einzusehen, in welcher Weise eine gesättigte Neutralsalzlösung mit Wasser als Angriffspunkt Fibrinausscheidung erzeugen könnte von dem Gesichtspunkt aus, daß die Fibrinalkalihydrosole wahre Lösungen im Sinne von krystalloiden Lösungen darstellen könnten. Denn das Fibrin ist, wie erwähnt, in einem Fibrinalkalihydrosol nicht von Wasser — in dem es ganz unlöslich ist —, sondern eben unter dem Einfluß von Alkali "gelöst" enthalten. —

Diese Erwägungen müßten geradezu auf den Gedanken führen, daß das Fibrin in den Fibrinalkalihydrosolen nicht in Form einer gewöhnlichen wahren Lösung vorhanden sein kann, sondern daß die Fibrinteilchen — seien es Fibrinmoleküle oder Molekülkomplexe — unter dem Einfluß des Alkalis eine

gewisse Menge Wasser imbibiert enthalten, daß mit anderen Worten die Alkaliadsorptionsverbindung des Fibrins nicht einfach im Wasser gelöst sein kann, sondern daß diese Verbindung die Eigenschaft besitzen muß, Wasser zu absorbieren. Oder um es anders auszudrücken, daß die Fibrinteilchen sich unter dem Einfluß von Alkali in einem wassergequollenen Zustande vorfinden müssen. Ein Fibrinalkalihydrosol stellt also in diesem Gedankengang ein disperses System mit wirklich "flüssiger", bzw. gequollener disperser Phase bzw. eine "wahre" Emulsion dar, und dieses Sol wäre somit als eine von einer wahren Lösung eines krystalloiden Körpers grundverschiedene Pseudolösung zu betrachten.

Die fibrinausscheidende Wirkung der gesättigten Neutralsalzlösungen könnte bei dieser Sachlage eine ungezwungene Erklärung finden und zwar in der Weise, daß den gequollenen Fibrinteilchen von einer gesättigten Neutralsalzlösung auf osmotischem Wege Wasser und mit dem Wasser sekundär Alkali entzogen werde. Die Fibrinausscheidung unter dem Einfluß von gesättigter Neutralsalzlösung wäre somit auf einen Entquellungsvorgang zurückzuführen. — Gesetzt, es entspreche die hier kurz skizzierte Vorstellungsweise den tatsächlichen Verhältnissen, so könnte man angesichts dessen zu dem Schluß gelangen, daß die Fibrinausscheidung in natürlichen und künstlichen Fibrinalkalihydrosolen unter allen Umständen als ein Entquellungsvorgang zu betrachten sei.

Würden nun sämtliche Eigentümlichkeiten der natürlichen und künstlichen Fibrinalkalihydrosole bzw. Gerinnungsflüssigkeiten, sowie sämtliche in Betreff der Fibrinausscheidung ermittelte Tatsachen von diesem einheitlichen Gesichtspunkt aus einer Erklärung zugänglich sein? Wenn es auch auf den ersten Blick den Anschein hatte, daß dies wirklich der Fall sein könnte, so war es doch von vornherein klar, daß diese Frage sich voraussichtlich erst dann nach allen Richtungen hin entscheidend beantworten lassen würde, wenn es gelingen würde, eine Einsicht zu gewinnen in eine weitere Frage, nämlich die, wie man sich den vorausgesetzten Quellungszustand der Fibrinteilchen vorzustellen habe. Bevor ich

versuche, dieser Frage und somit dem Vorerwähnten näherzutreten, möchte ich in dem nächsten Aufsatz einige experimentelle Gründe anführen, die dazu beitragen könnten, die Richtigkeit der Vorstellungsweise, daß die Fibrinteilchen sich in den Gerinnungsflüssigkeiten in einem gequollenen Zustande vorfinden müssen und daß die Fibrinausscheidung somit grundsätzlich auf einen Entquellungsvorgang zurückgeführt werden kann, zu bestätigen. —

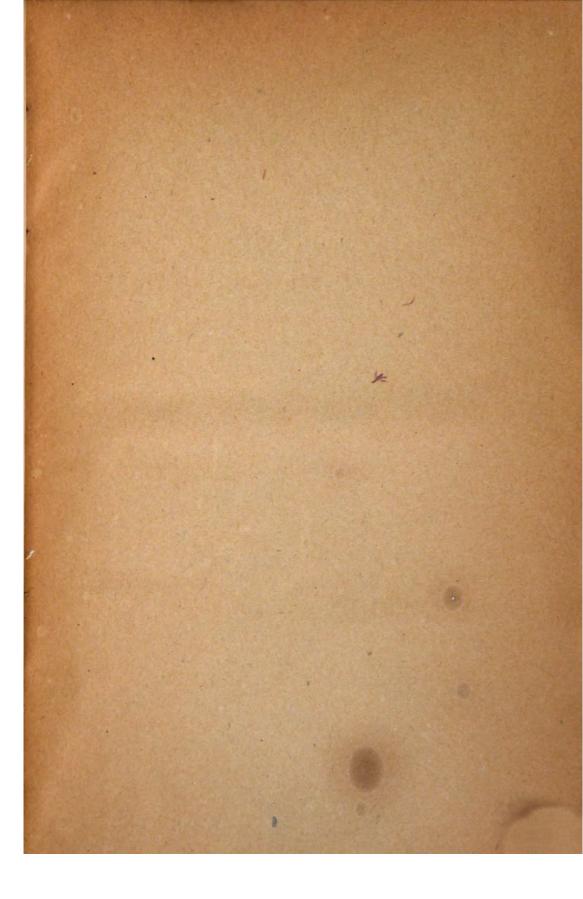
Autorenverzeichnis.

- Andersen, A. C., und Regitze Roed-Müller. Zur Kenntnis der Eiweißkörper. III. Zur Bestimmung der Monoaminodicarbonsäuren. S. 326.
- Bau, Arminius. Einige Bemerkungen über die Hefen-Carboxylase mit besonderer Berücksichtigung ihrer Haltbarkeit in Trokkenhefen im Vergleiche zu anderen Hefenenzymen. S. 340.
- Bodnår, J. Über die Zymase und Carboxylase der Kartoffel und Zuckerrübe. S. 193.
- Heide, R. von der, M. Steuber, und N. Zuntz. Untersuchungen über den Nährwert des Strohstoffs. S. 161.
- Hekma, E. Über das Fibrin und seine Beziehung zu einigen Problemen der Biologie und Kolloidchemie. VI. Über den physikalischen Fibrinausscheidungs- bzw. Gelbildungsmodus in natürlichen und künstlichen Gerinnungsflüssigkeiten. S. 370.
- Über das Fibrin und seine Beziehung zu einigen Problemen der Biologie und Kolloidchemie. VII. Über die Ähnlichkeit des Fibrinausscheidungsvorgangs mit einem Krystallisationsprozeß einerseits und einem kolloidalen Ausfällungsprozeß andererseit, sowie über die

- Natur der Fibringewinnung überhaupt. S. 428.
- van der Laan, F. H. Das osmotische Gleichgewicht zwischen Blut und Milch. II. S. 313.
- Lenk, Emil. Die Bedeutung der Elektrolyte für Quellungsprozesse. A. Die Wirkungen der einzelnen Elektrolyte. S. 15.
- Die Bedeutung der Elektrolyte für Quellungsprozesse. B. Elektrolytkombinationen. S. 58.
- Meißner, Richard. Pharmakologische Versuche am überlebenden Darm. S. 236.
- den Darm. S. 236.
 Schapiro, F. Über die Wirkung der Digitalis allein und in Kombination mit Adrenalin und Schilddrüse auf das Herz von Rena esculenta. S. 1.
- esculenta. S. 1.
 Steuber, M., siehe von der Heide.
 Stoklasa, Julius. Ist das Kaliumion an der Eiweißsynthese in der Pflanzenzelle beteiligt?
 S. 107.
- Über die Abhängigkeit der Resorption des Kaliumions von der Gegenwart des Natriumions im Organismus der Zuckerrübe. S. 260.
- Voigt, J. Die Verteilung und das Schicksal des kolloiden Silbers im Säugetierkörper. IV. S. 211. Zuntz, N., siehe von der Heide.



• 5



CHEMISTRY LIBRARY



CHEMISTRY LIBRARY

JOURNAL Does Not Circulate



